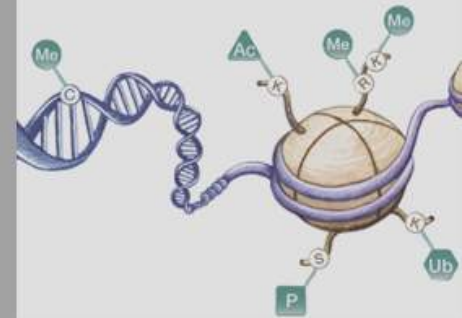
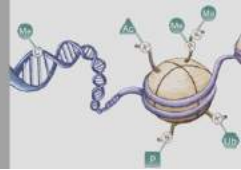


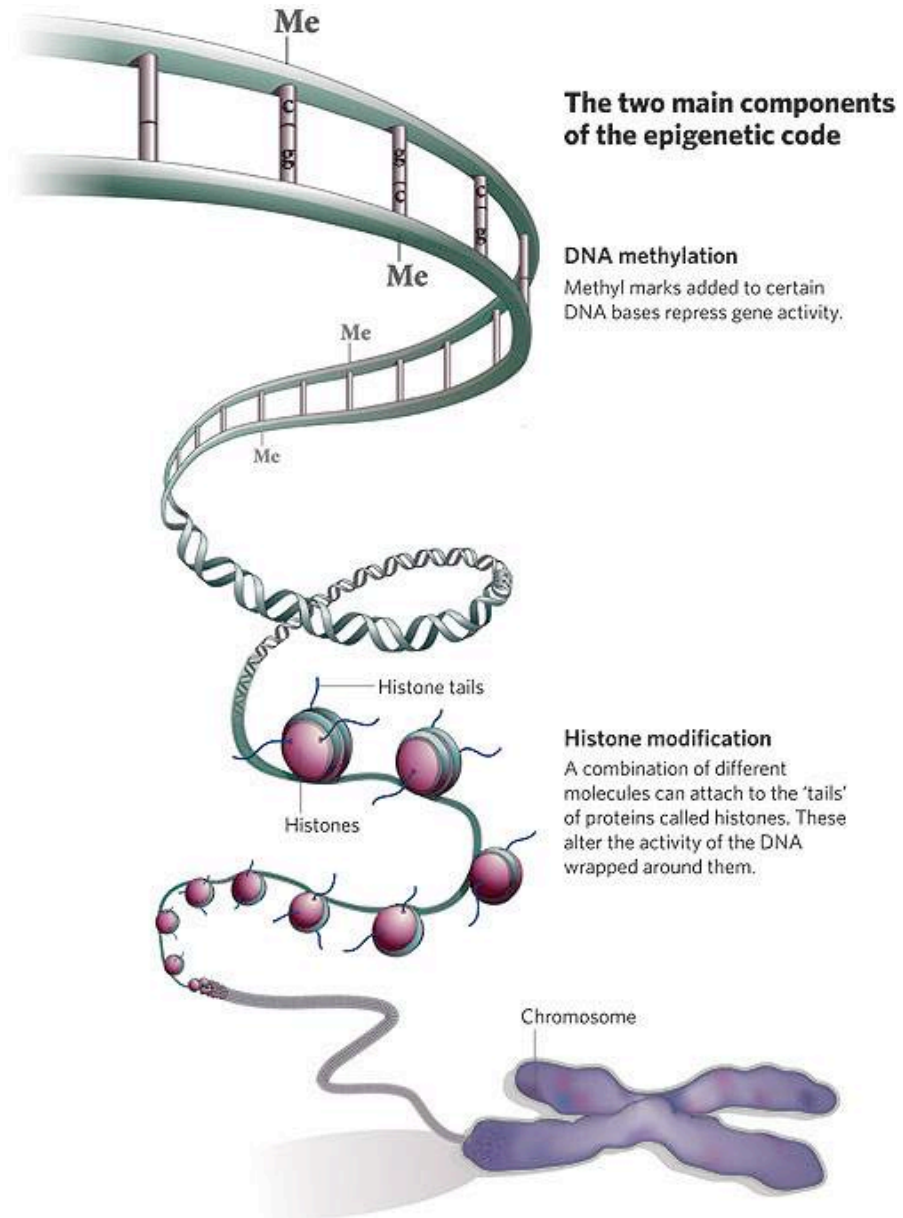
Epigenetika

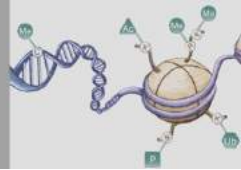


Varga Máté
mvarga@ttk.elte.hu

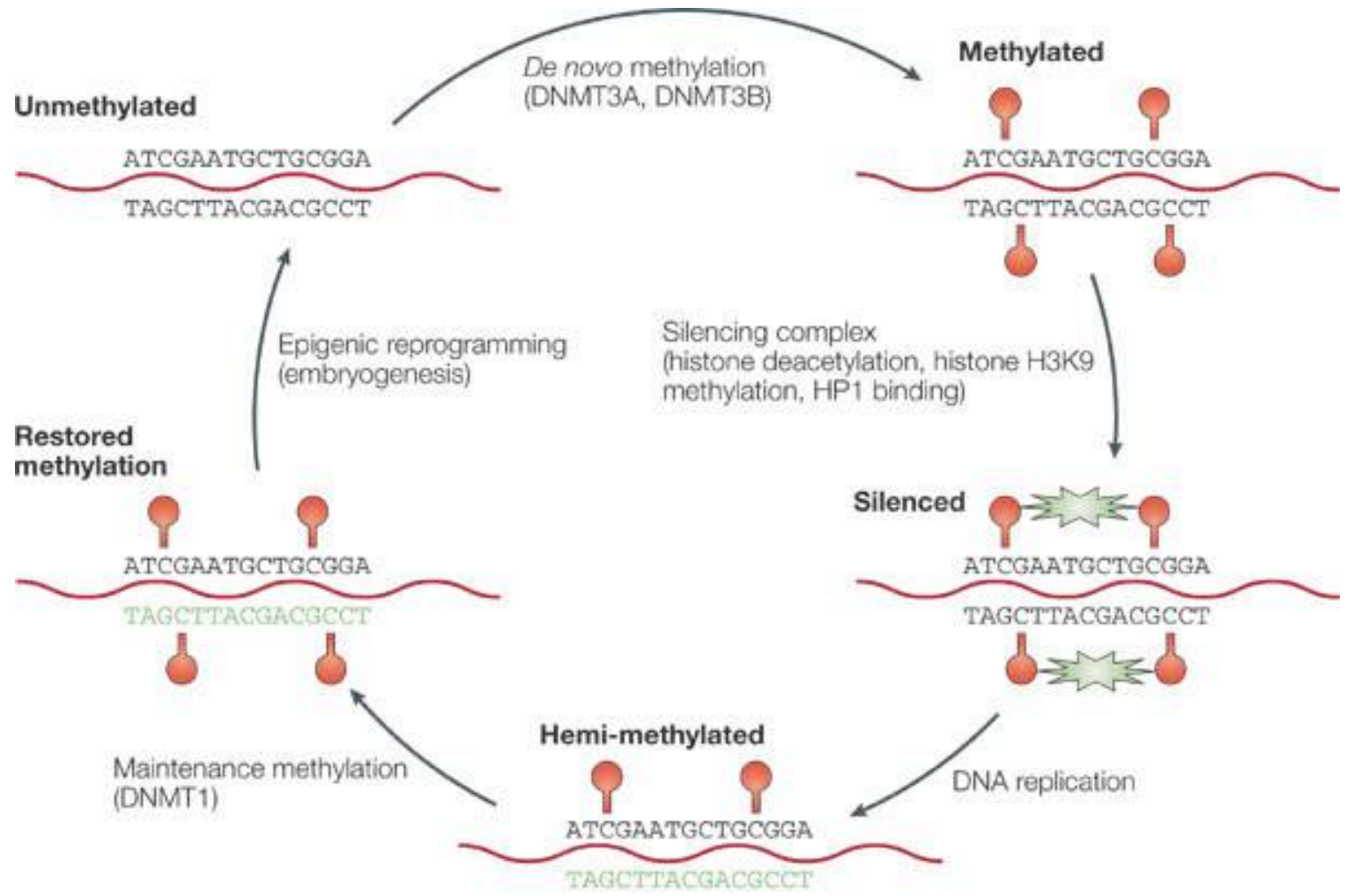


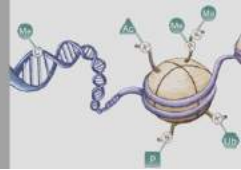
A génműködés epigenetikus szabályozása



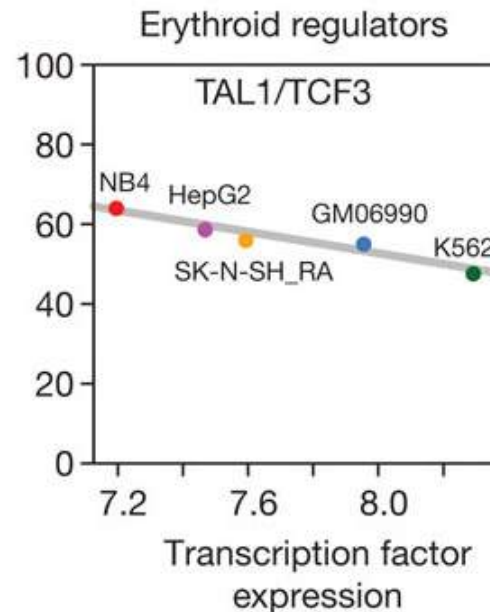
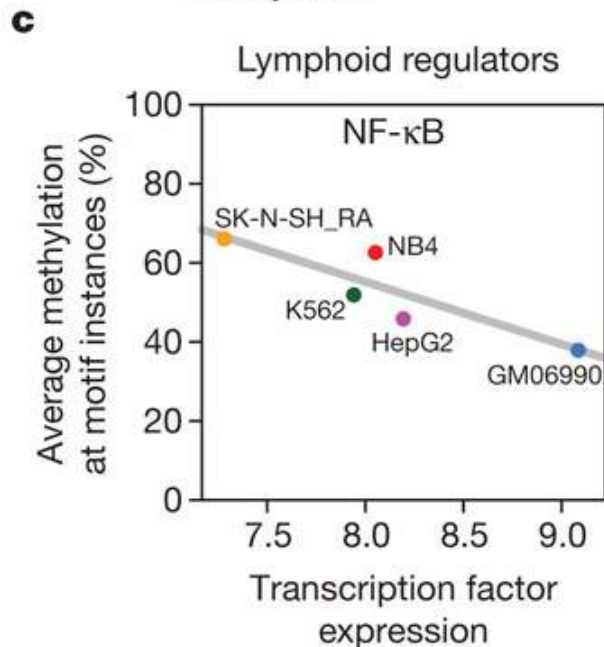
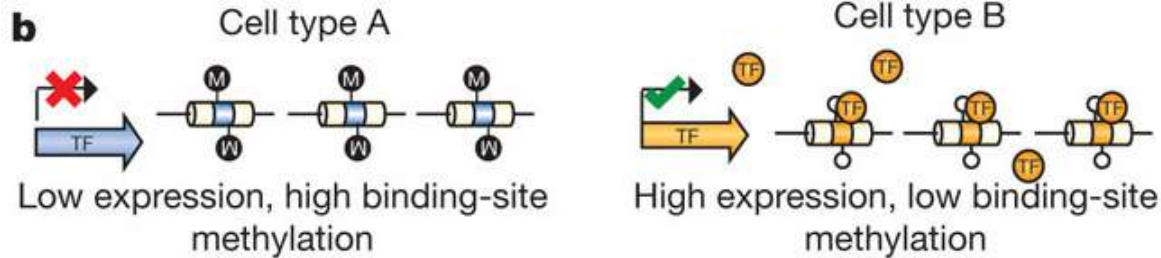


DNS metiláció CpG pozíciókban





A DNS metiláció lehet passzív folyamat

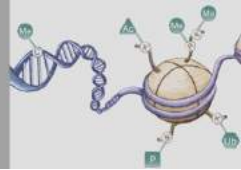


- ha a DNS metiláció egy aktív folyamat lenne, akkor a metiláció mértéke egyes TF kötőhelyeken független kellene legyen adott TF koncentrációjától

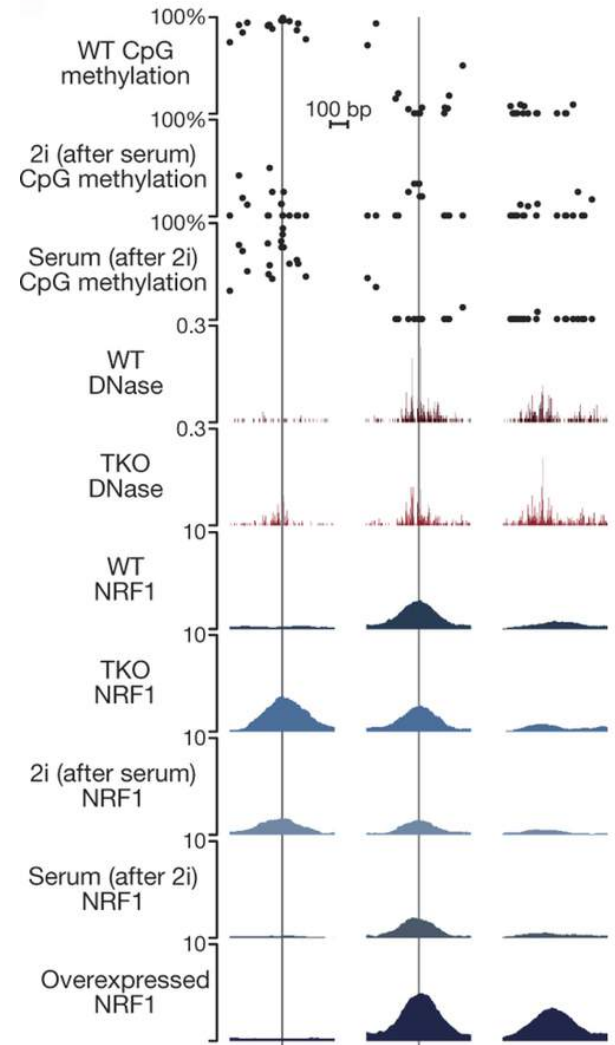
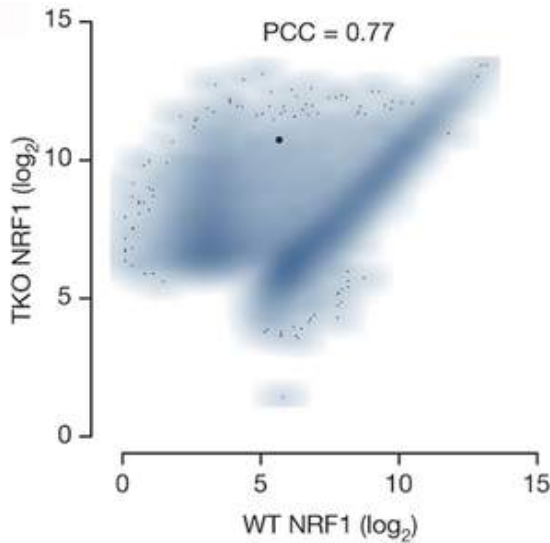
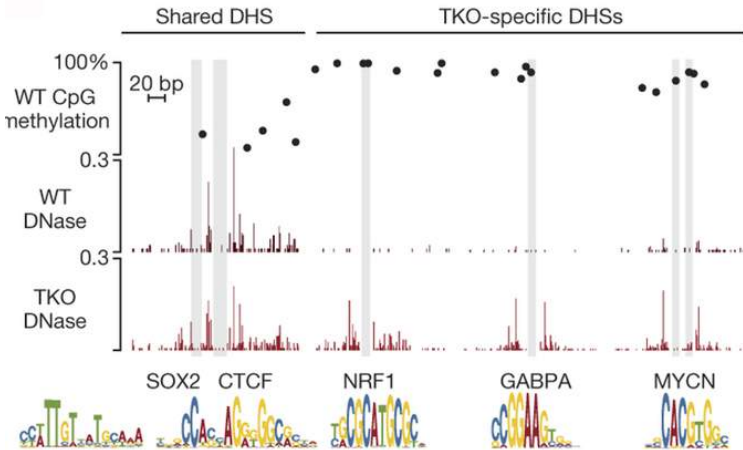
- ezzel szemben azt tapasztaljuk, hogy minél nagyobb egy TF expressziója, annál kevésbé metilált a specifikus kötőhelye

- vagyis a metiláció egy passzív folyamat ott zajlik le, ahol a DNS-t nem kötik más faktorok

(Thurman et al. (2012) *Nature*)

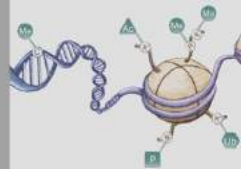


Léteznek metilációra érzékeny TF-k

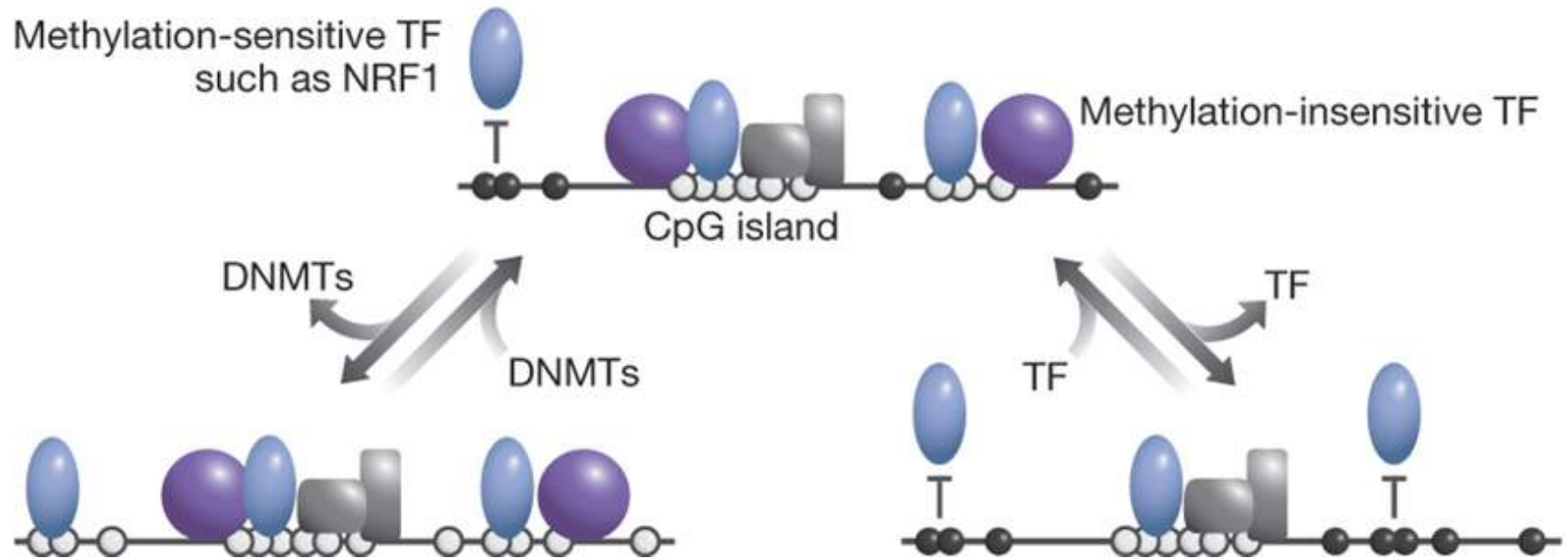


- DNMT funkció hiányában, korábban metilált helyekre is bekötnek TF-k

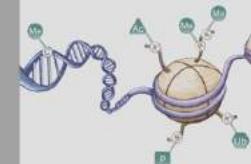
- új metiláció hatására, ezek az NRF1 kötések eltűnnek



Léteznek metilációra érzékeny TF-k

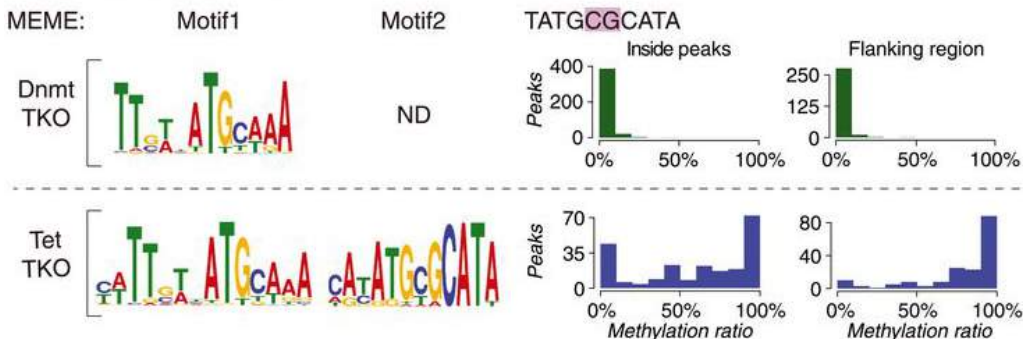


- a metiláció-szenzitív TF-k kötése bekövetkezhet a DNMT-funkció csökkenése következményében, vagy metiláció-inszenzitív TF-k kötésének hatására (amely lokális demetilációt indukálhat)



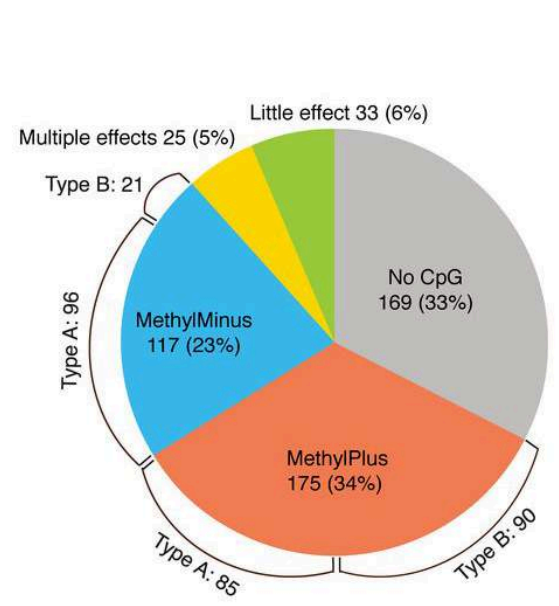
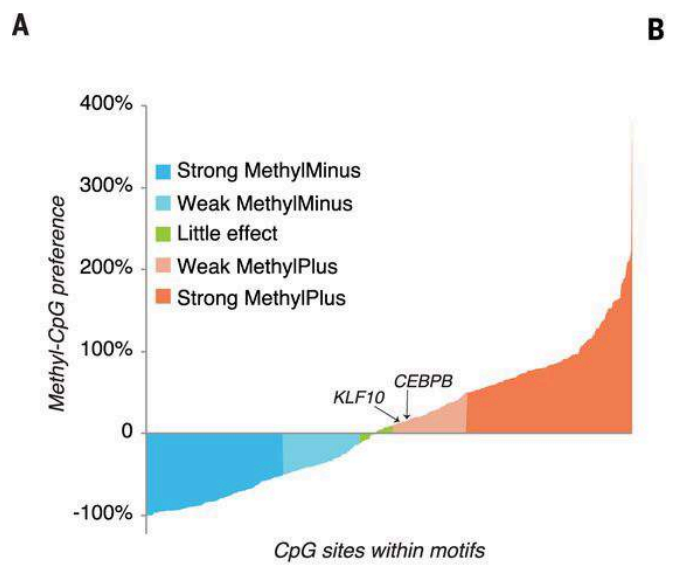
Léteznek metilációra érzékeny TF-k

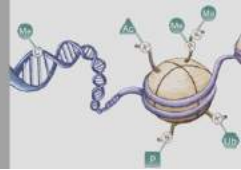
Oct4 (Pou5f1): MethylPlus



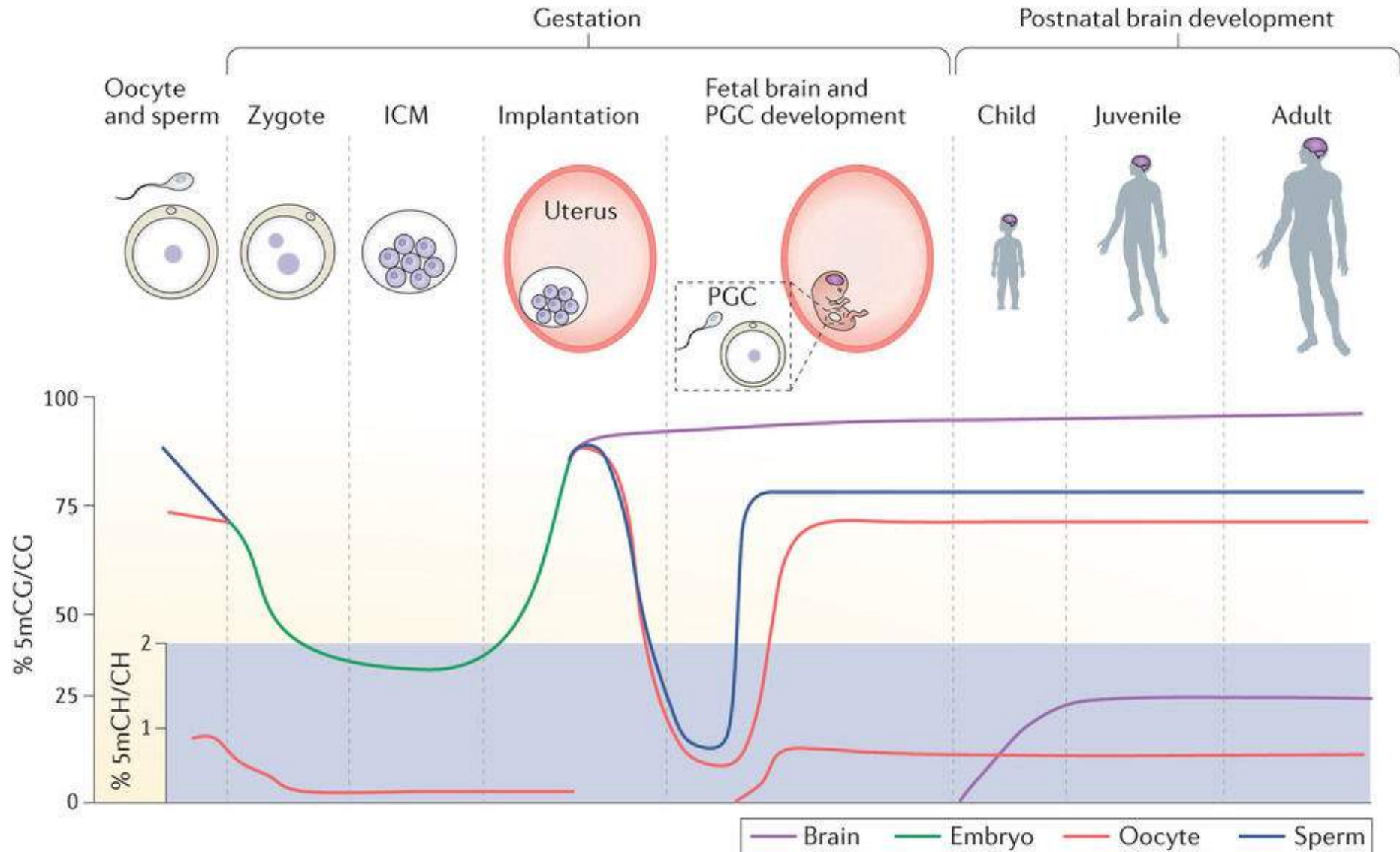
- Az Oct4 bizonyos kötőhelyein *preferálja* a metilációt

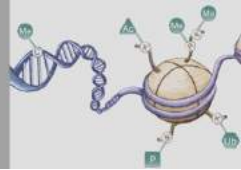
- a legtöbb ismert TF valamilyen módon érzékeny a metilációra.



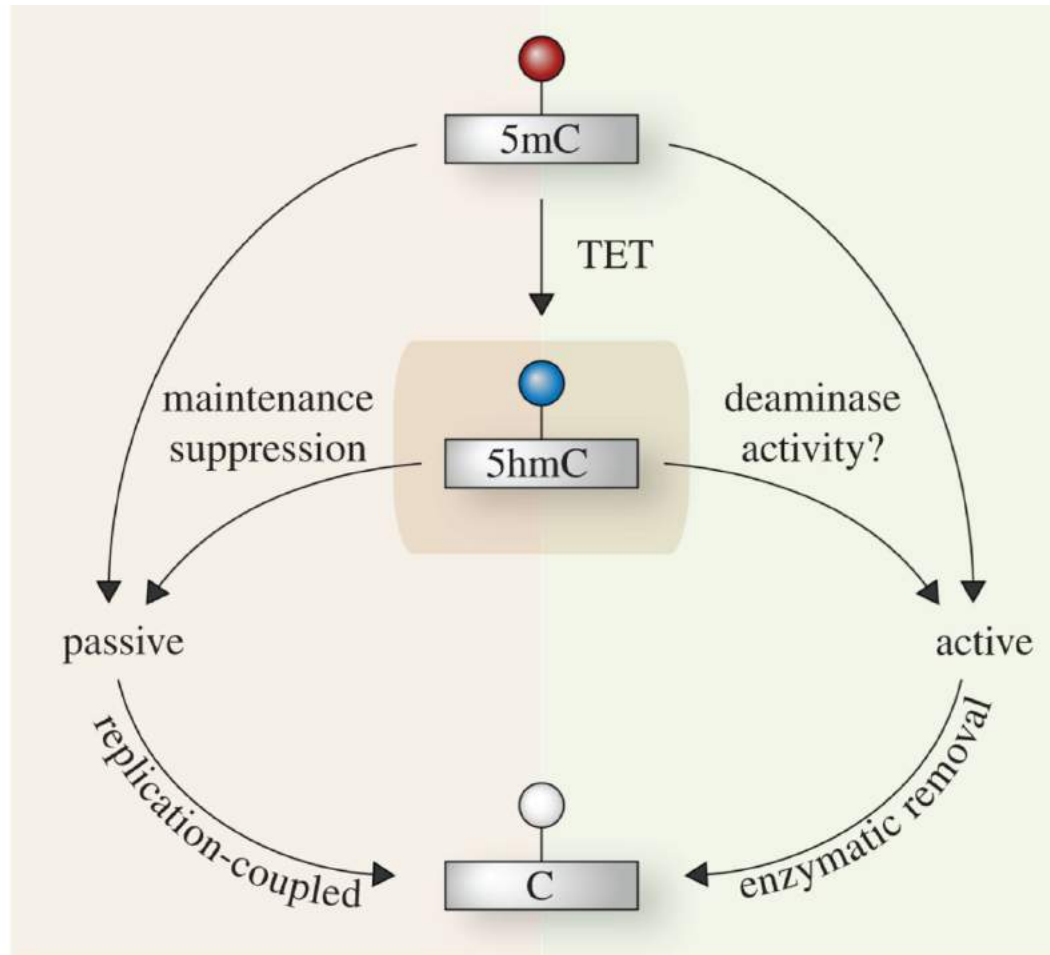


A metilációs mintázat változása a fejlődés során

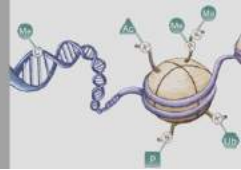




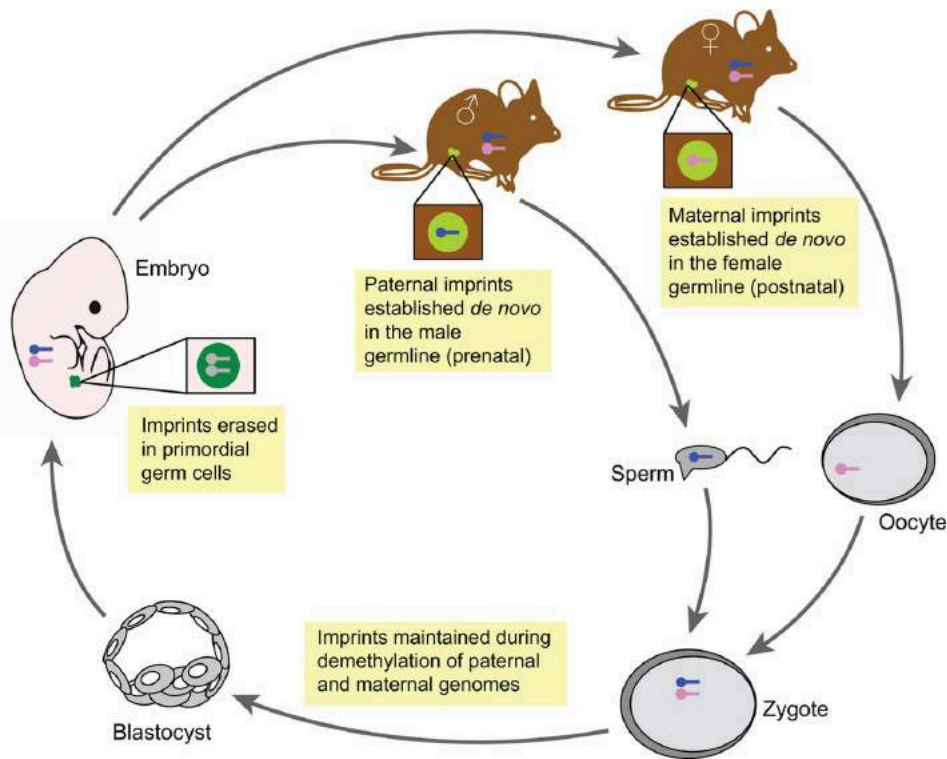
Az aktív demetiláció egy lehetséges mechanizmusa



- az 5mC-5hmC átalakulás az apai genom (passzív) demetilációjának kezdeti lépése is lehet a fejlődés elején
- aktív (Tet-függő) demetiláció játszódik le a PGC-kben is



A szülői imprinting és szerepe a fejlődésben

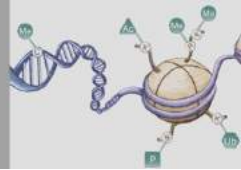


Gene	Direction of imprint	Function of gene product	Role in behavior
<i>Peg3</i>	Paternal	Zinc finger protein; control of apoptosis	Sex-specific behavior
<i>Ndn</i>	Paternal	Regulator of neuronal growth and differentiation	Spatial learning; socialization
<i>Grb10</i> (neuron specific)	Paternal	Signal adaptor	Aggression
<i>Ube3a</i> (neuron specific)	Maternal	Ubiquitin ligase, transcriptional co-activator	Memory, learning, motor function
<i>Nesp</i>	Maternal	Secretory pathway	Exploratory behavior

Gene	Direction of imprint	Function of gene product	Role in placenta
<i>Peg3</i>	Paternal	Zinc finger protein; control of apoptosis	Growth
<i>Peg1</i>	Paternal	Hydrolase	Growth
<i>Ascl2</i>	Paternal	Helix-loop-helix transcription factor	Songiotrophoblast development
<i>Igf2 P0</i>	Paternal	Growth factor	Nutrient transfer
<i>Phlda2</i>	Maternal	Pleckstrin homology domain protein	Songiotrophoblast restriction
<i>Cdkn1c</i>	Maternal	Cell cycle regulator	Songiotrophoblast restriction
<i>Slc22a3</i>	Maternal	Cation transporter	Monoamine transfer

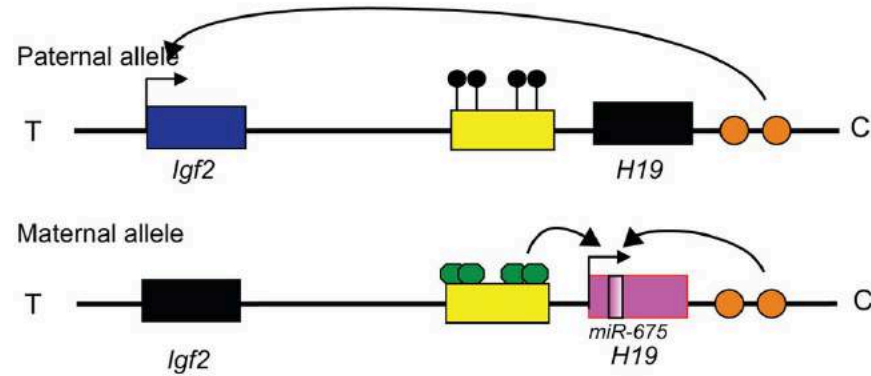
General positive regulator of embryo growth
Igf2 (paternal)

General negative regulators of embryo growth
H19 (maternal)
Igf2r (maternal)
Grb10 (maternal)

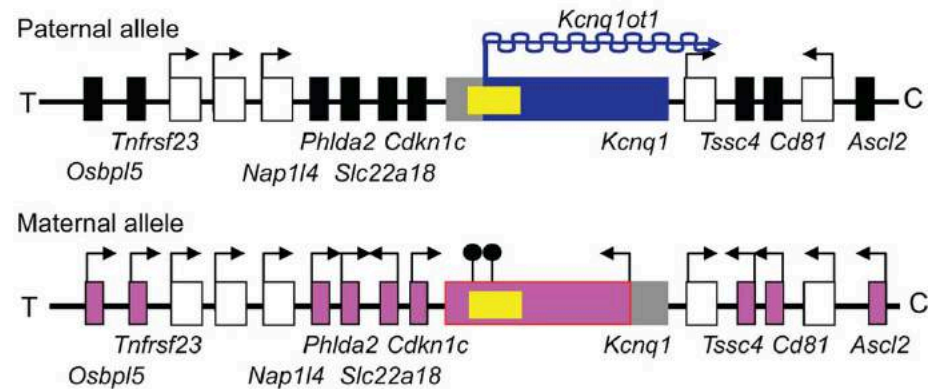


A szülői imprinting mechanizmusa

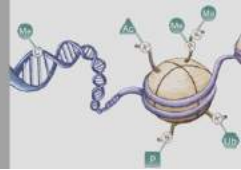
A Insulator model of imprinting: the *H19/Igf2* locus



B ncRNA model of imprinting: the *Kcnq1* locus

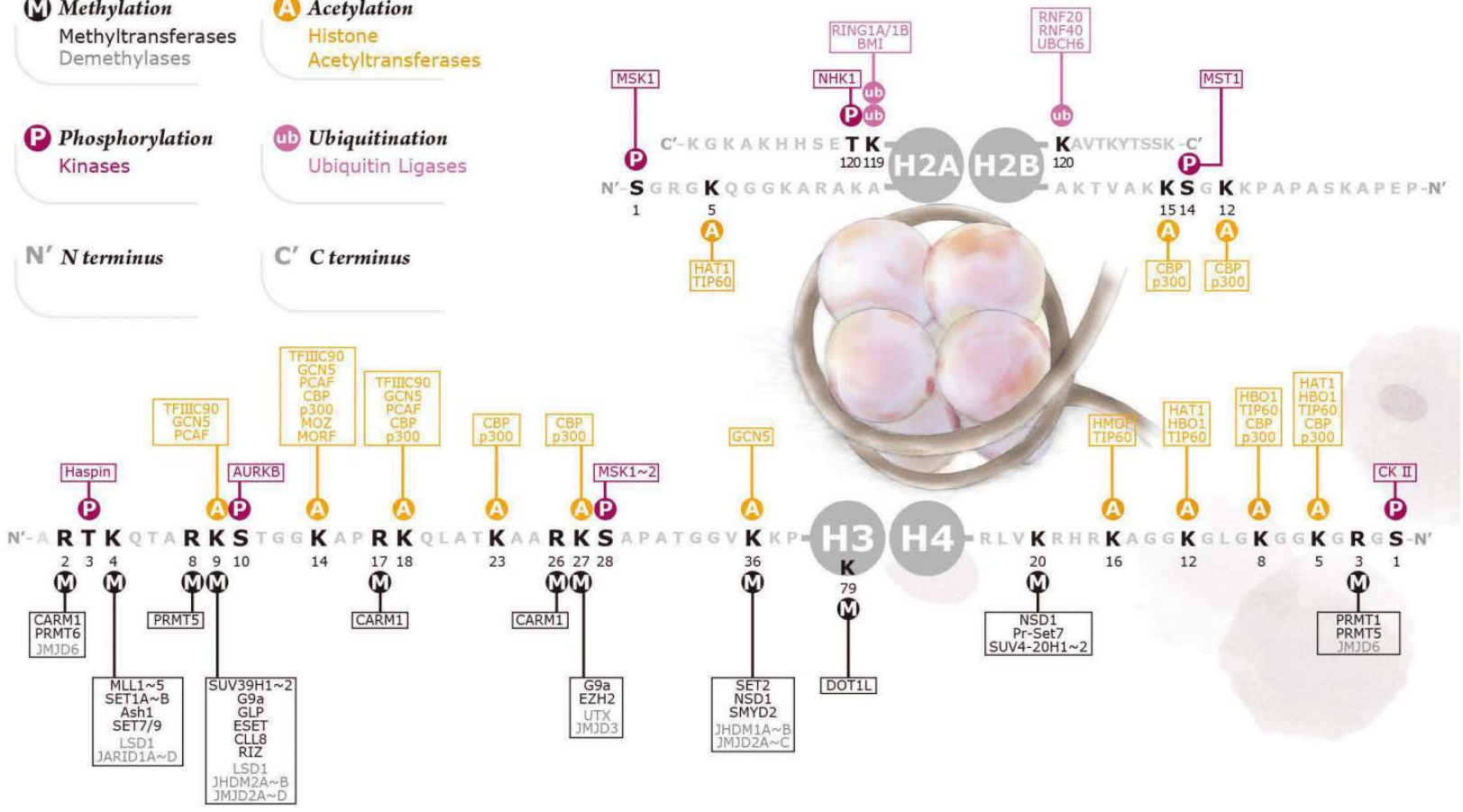


Key	ICR	DNA methylation	Transcribed gene
	Active maternal allele	CTCF	Repressed gene
	Active paternal allele	Enhancer	Expressed gene



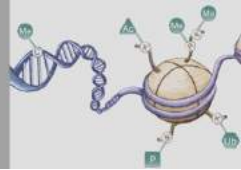
Epigenetikus hisztonmódosítások

- M** *Methylation*
Methyltransferases
Demethylases
- A** *Acetylation*
Histone
Acetyltransferases
- P** *Phosphorylation*
Kinases
- ub** *Ubiquitination*
Ubiquitin Ligases
- N'** *N terminus*
- C'** *C terminus*

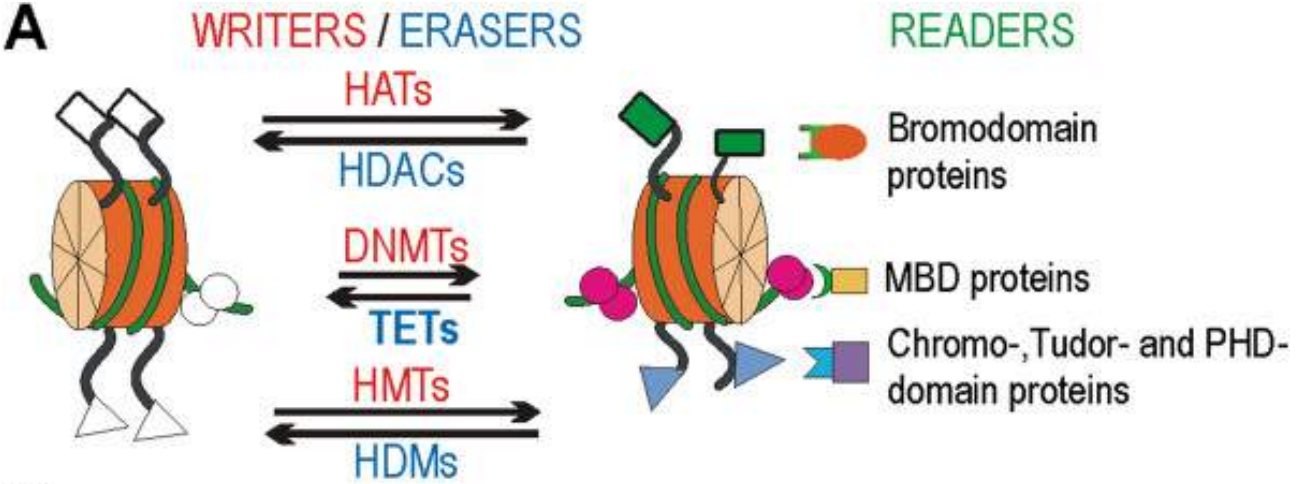


Inaktív állapot: acetiláció (Ac) - lysine (K) 12 (hiszton 4 - H4) és metiláció (Me) K9, K27 (H3)

Aktív állapot: acetiláció - K9, K14 (H3), K5 (H4), metiláció - K4 (H3), Arginin (R) 3 (H4)



Epigenetikus hisztonmódosítások



HATs = histone acetyl transferases

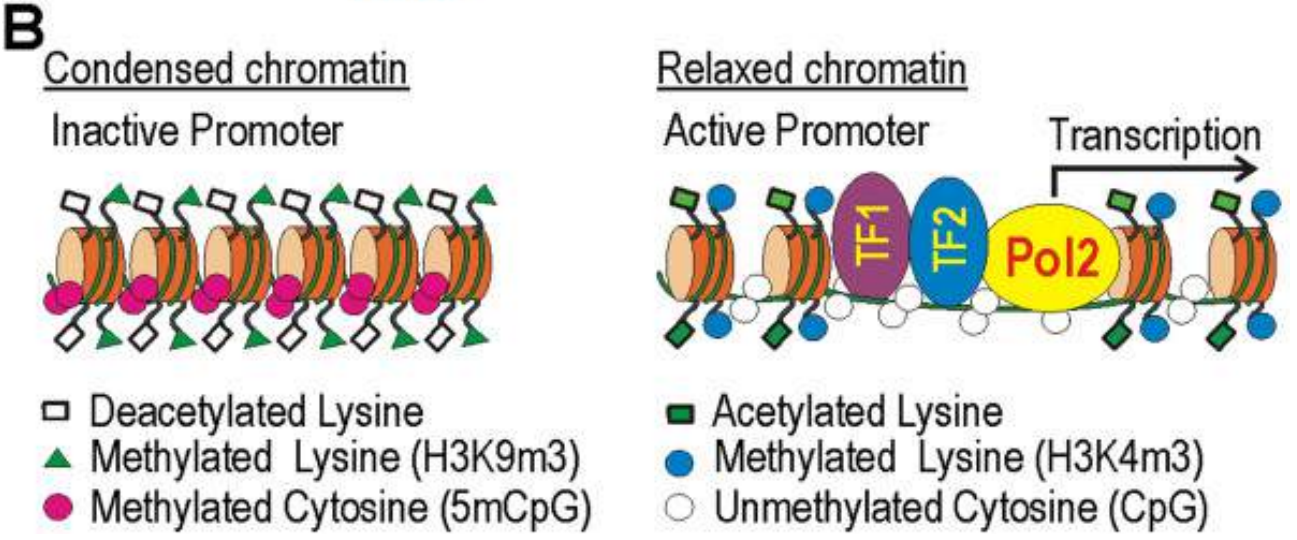
HDACs = histone deacetylases

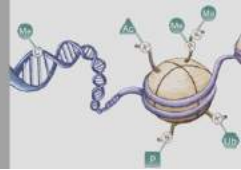
DNMTs = DNA methyltransferases

TETs = ten-eleven translocation enzymes

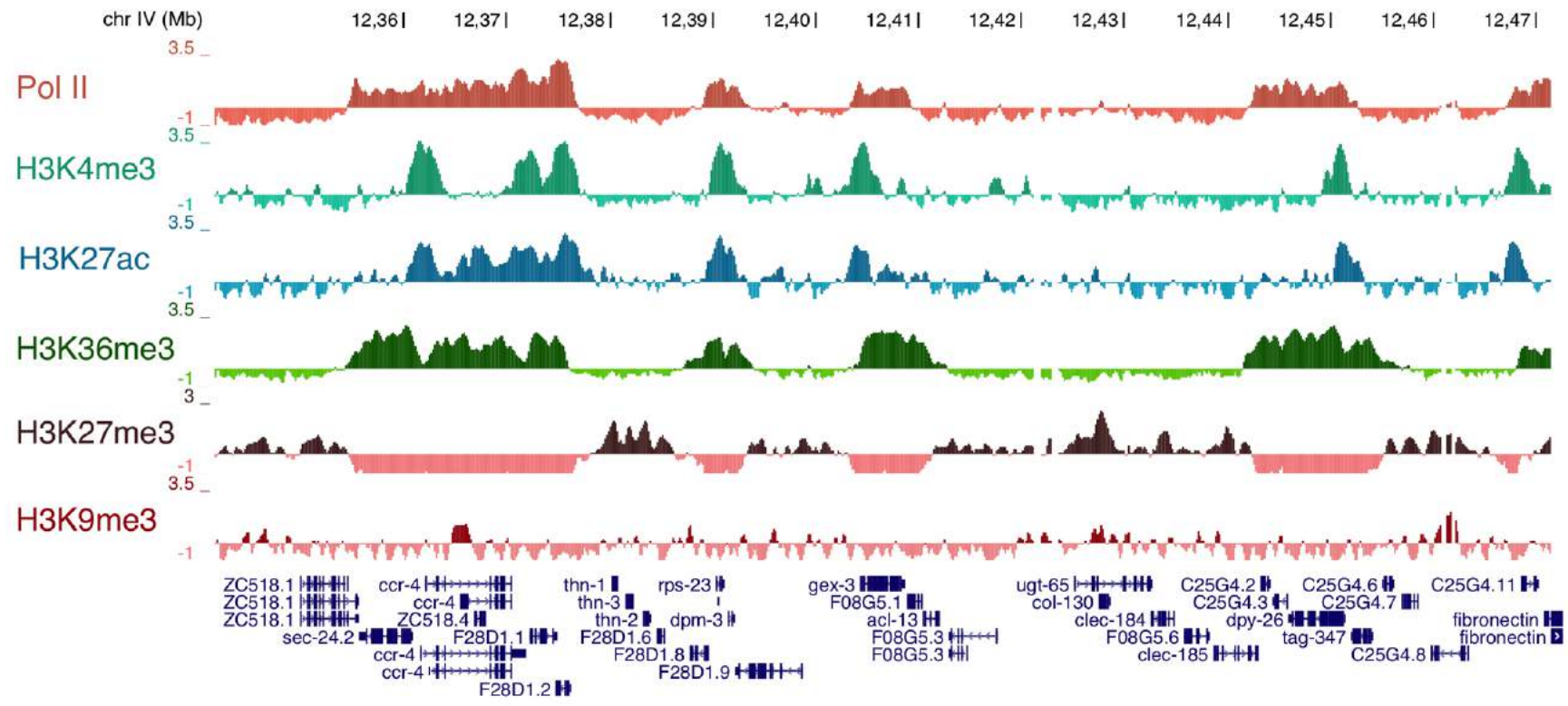
HMTs = histone methyl transferases

HDMs = histone demethylases

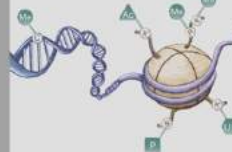




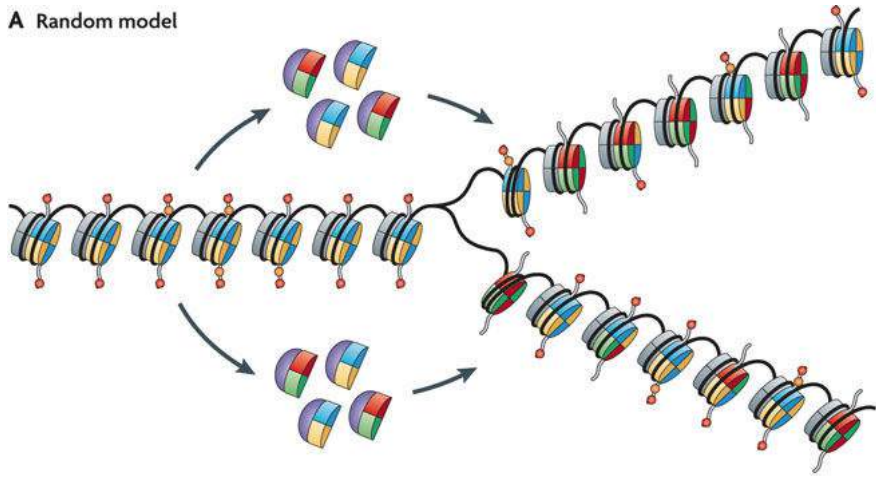
Epigenetikus hisztonmódosítások és a génműködés



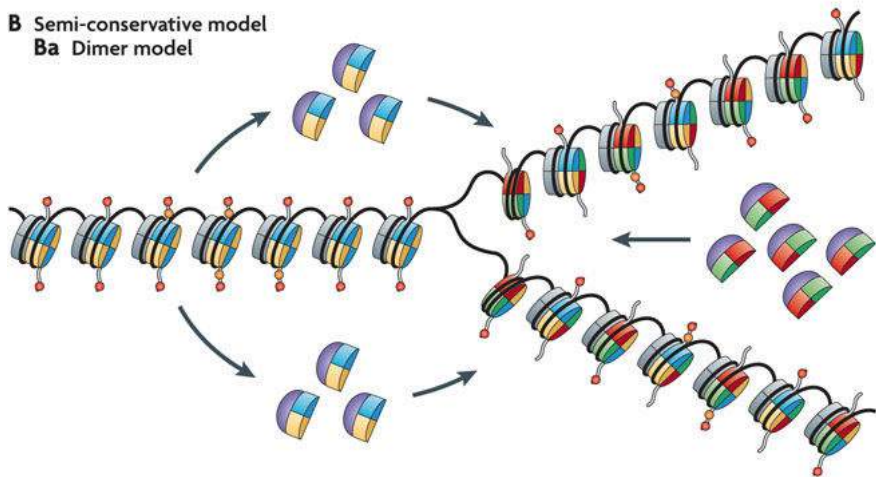
Epigenetikus hisztonmódosítások öröklődése



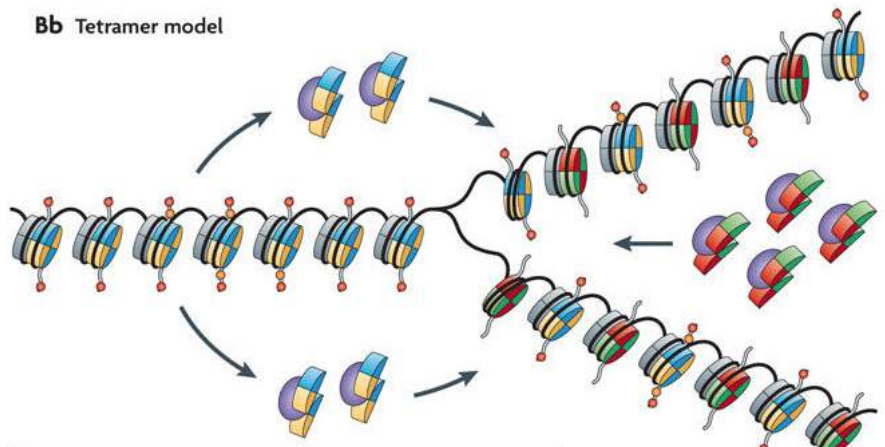
A Random model



B Semi-conservative model
Ba Dimer model

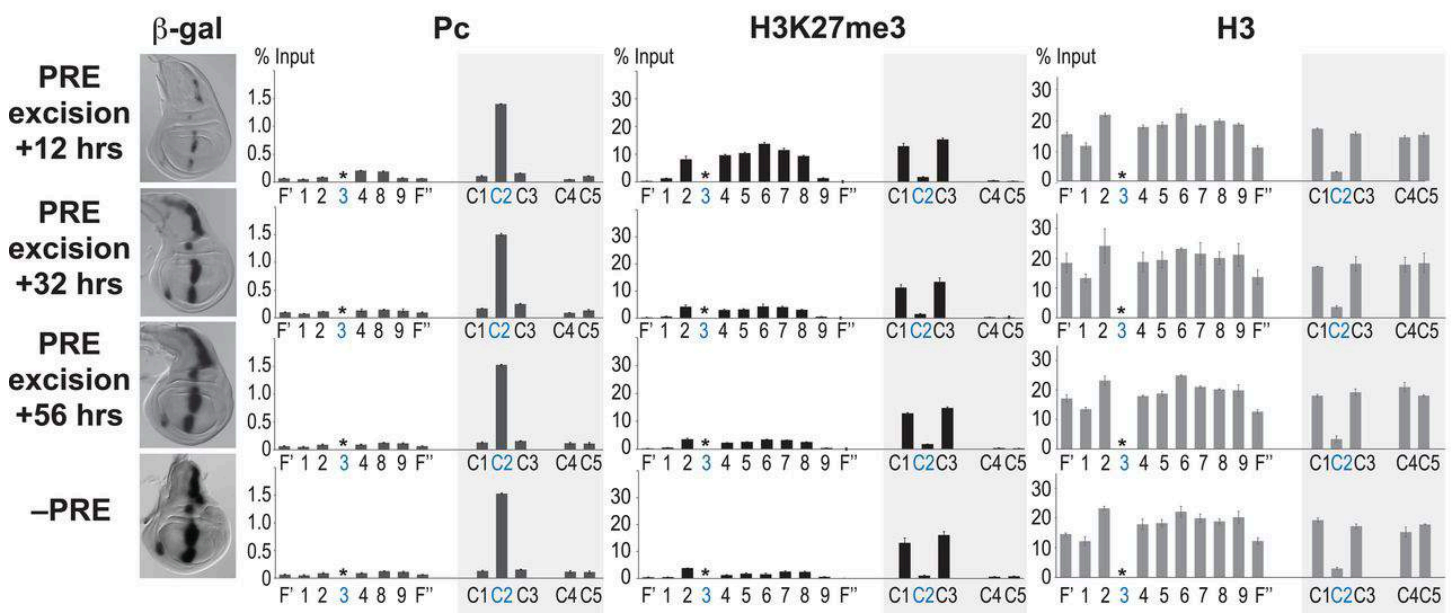
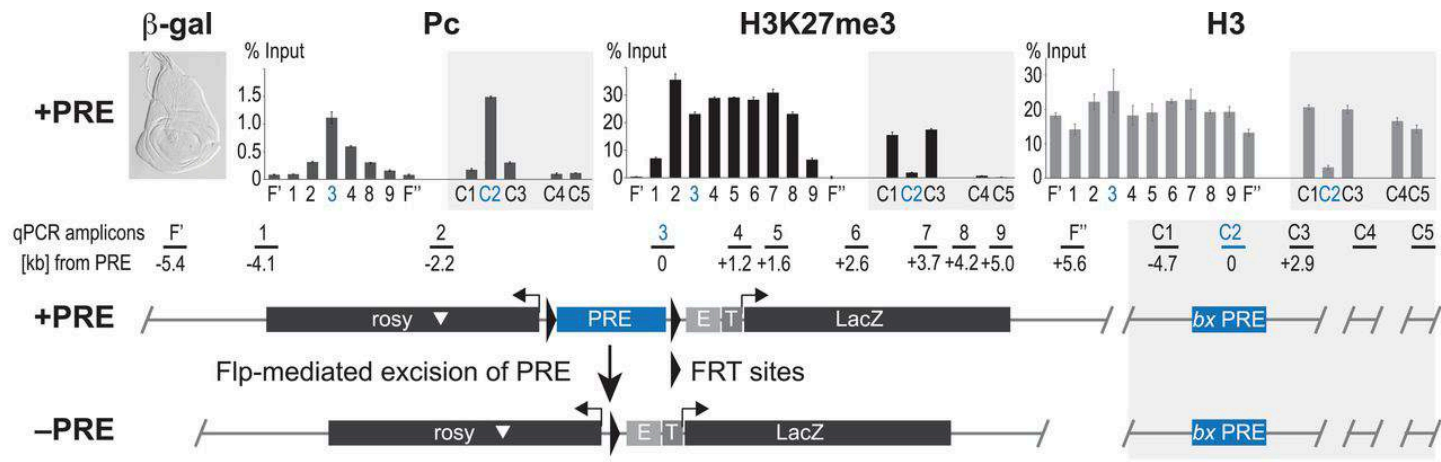
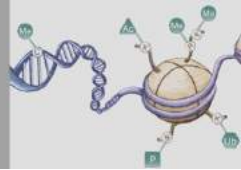


Bb Tetramer model

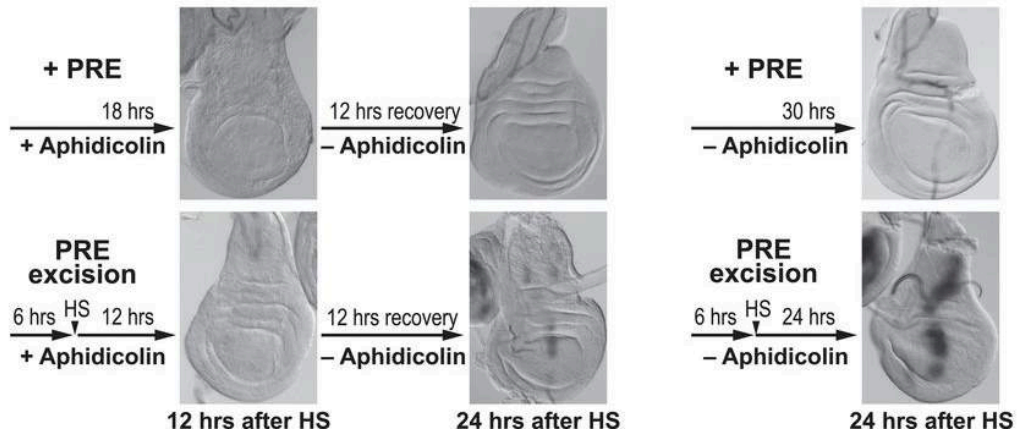
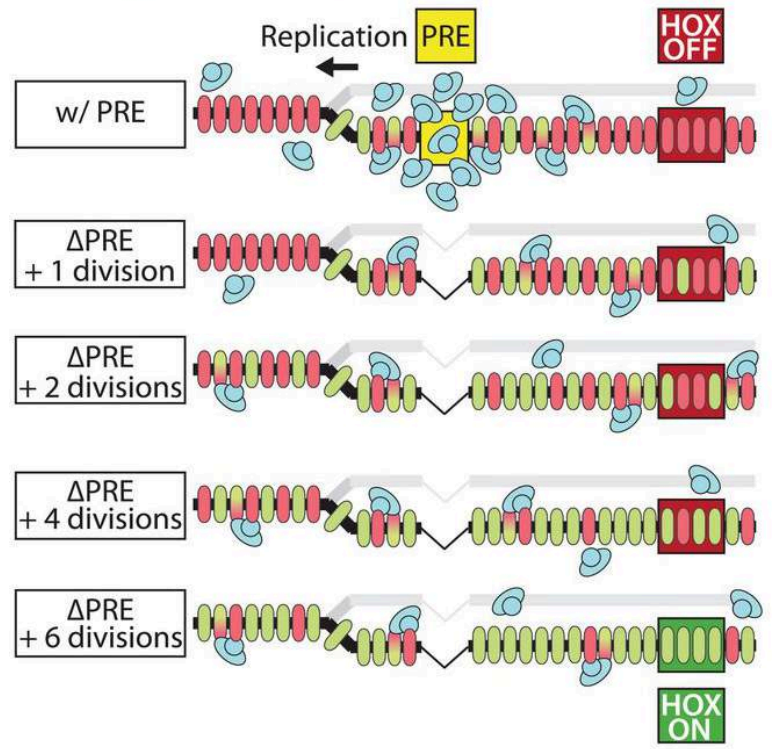
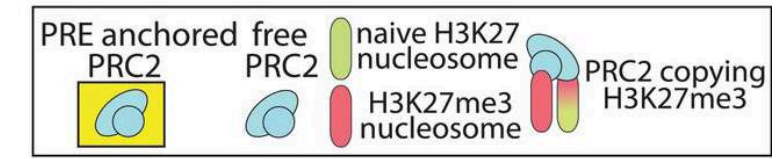
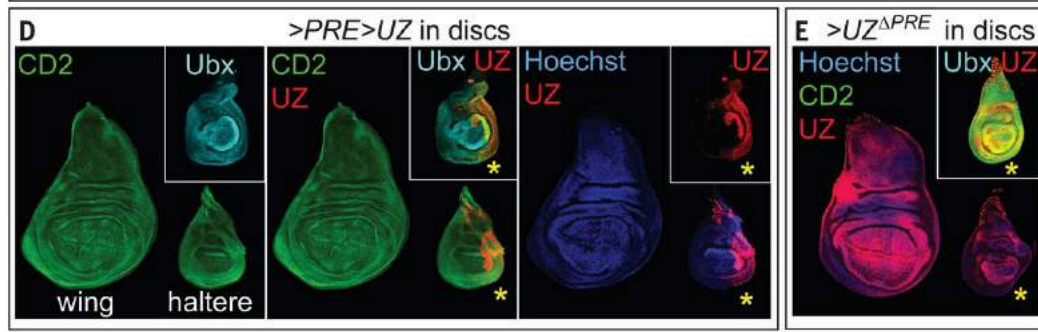
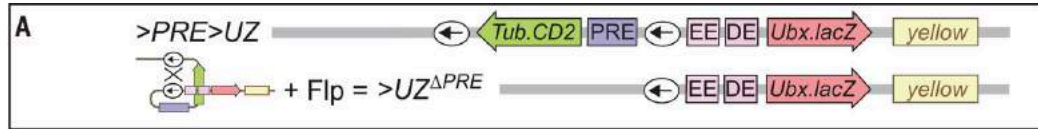
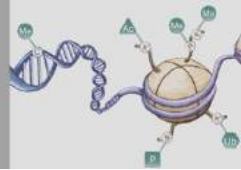


Pre-existing H3	Histone PTM A	Histone chaperone
Pre-existing H4	Histone PTM B	
Newly deposited H3	Newly deposited H4	

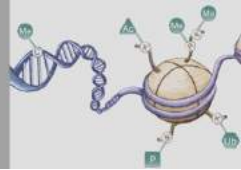
Epigenetikus hisztinmódosítások öröklődése: a PcG fehréjék szerepe



Epigenetikus hisztonmódosítások öröklődése: a PcG fehréjék szerepe

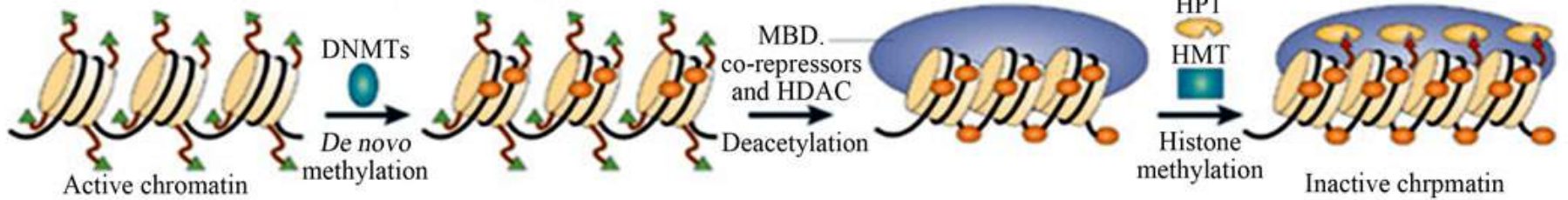


- a represszív hiszton-módosítások a sejtosztódások során vesznek el

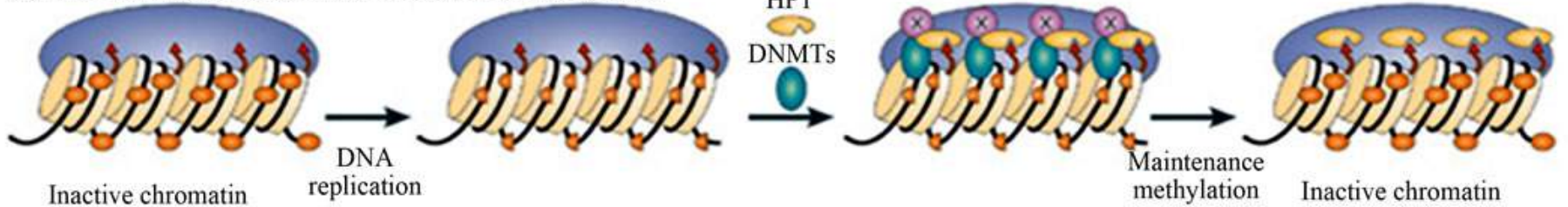


A represszív epigenetikus módosítások egymás katalizátoraiként működhetnek

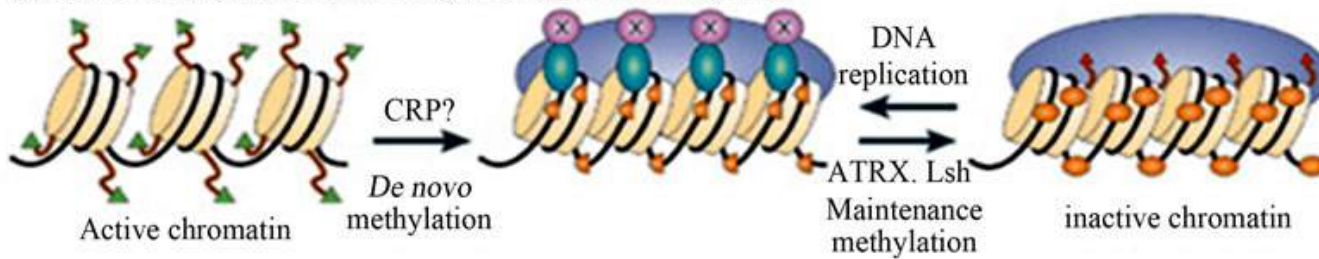
(a) Model of DNA methylation directing histone methylation



(b) Model of histone methylation directing DNA methylation

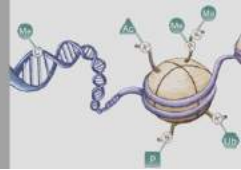


(c) Model of chromatin remodelling directing DNA methylation

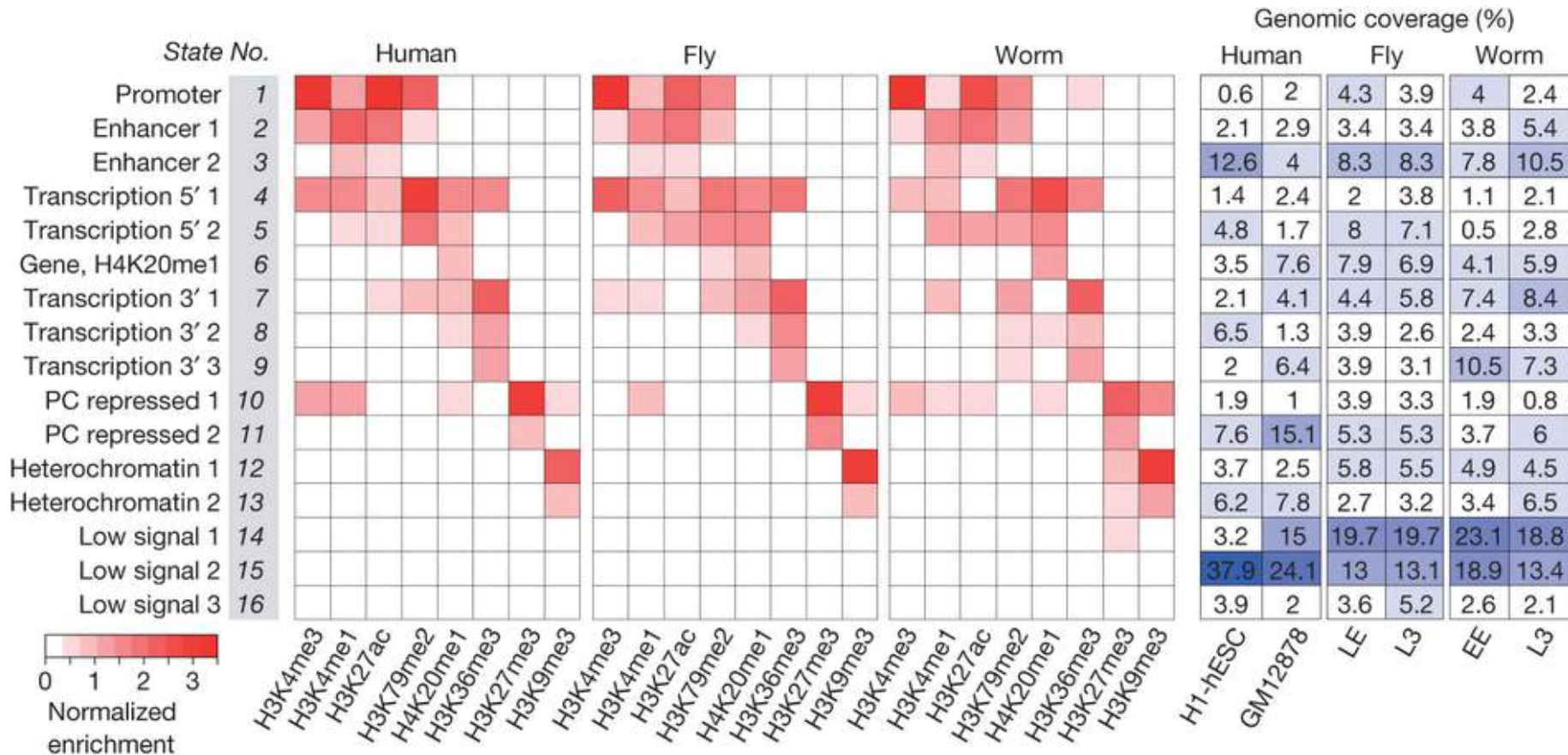


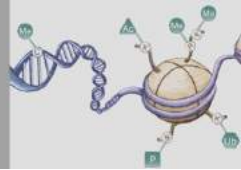
	Acetylation
	Methylated DNA
	Hemi-methylated DNA
	Methylated H3-K9
	HP1
	DNA methyltransferase (DNMT)
	Histone methyltransferase (HMT)

Nature Reviews | Genetics



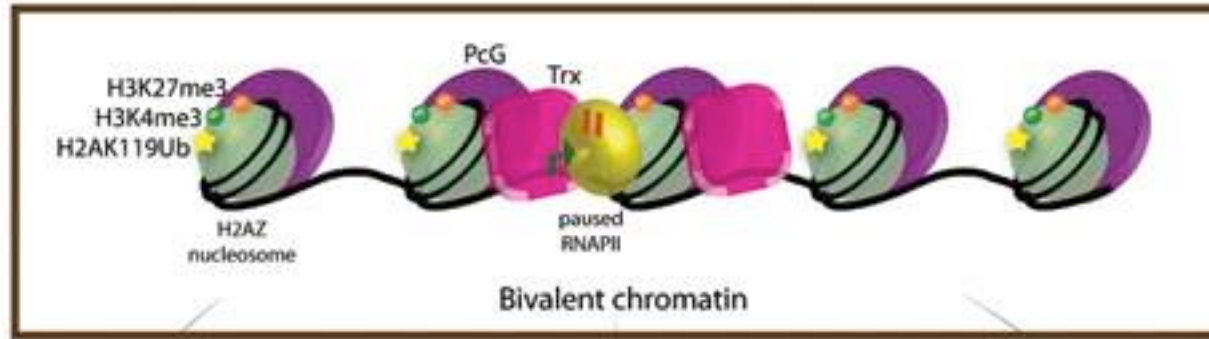
A promóter módosítások elég hasonlóak a különböző Metazoa organizmusokban



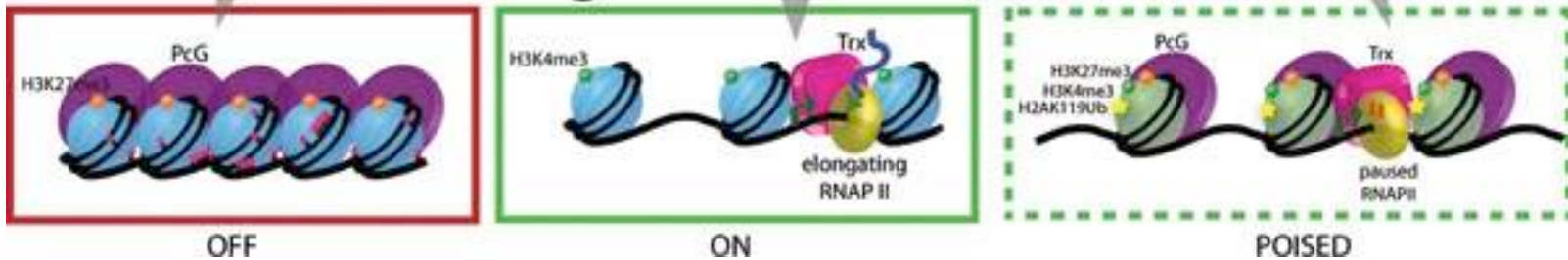


Bivalens epigenetikus módosítások

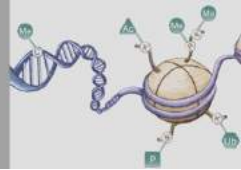
ES cells



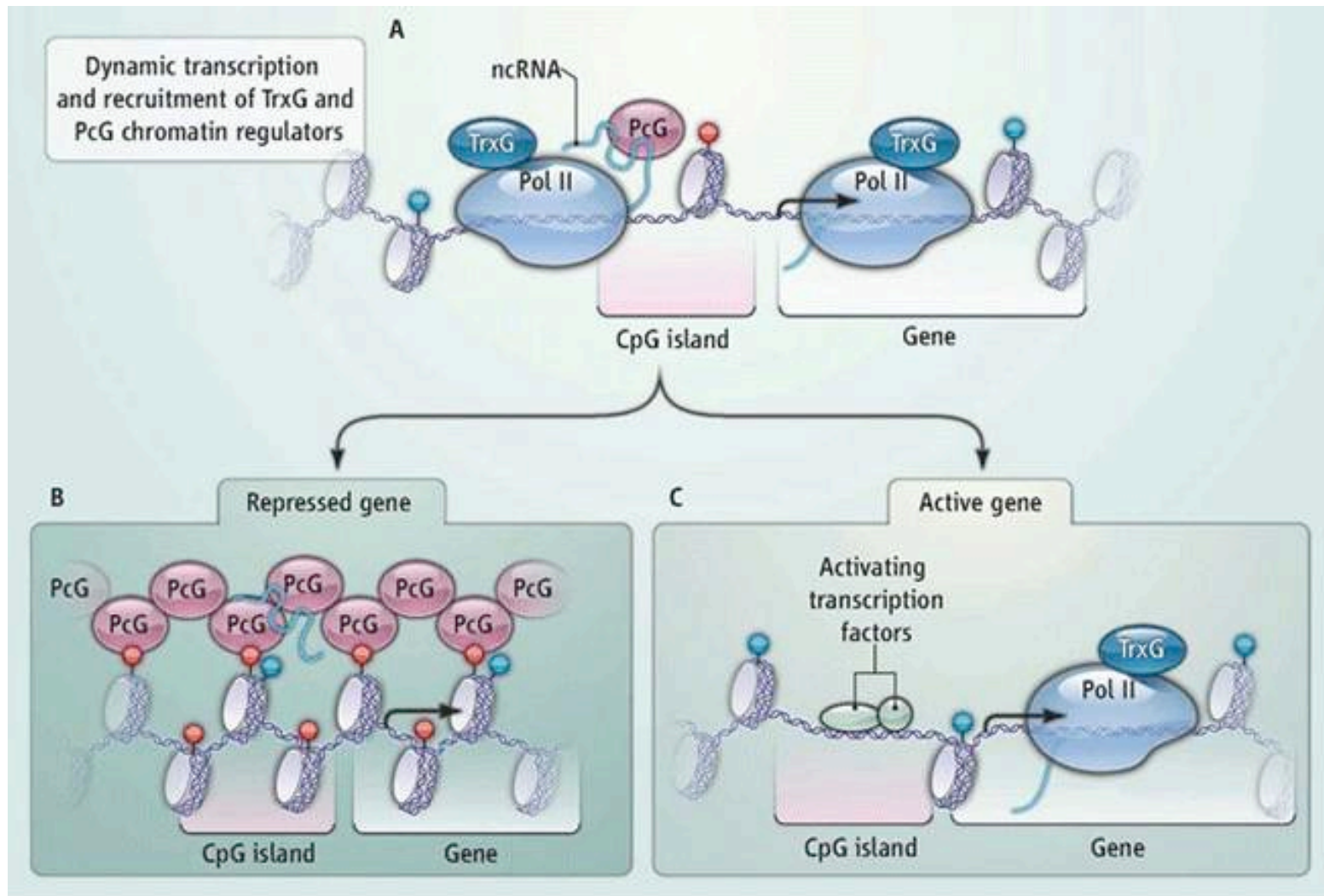
Lineage-committed cells



- főleg fejlődési géneknél jelentkeznek
- a bivalens státusz a fejlődés előrehaladtával feloldódik

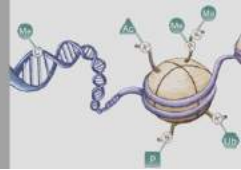


A transzkripció lehet represszív hatású is

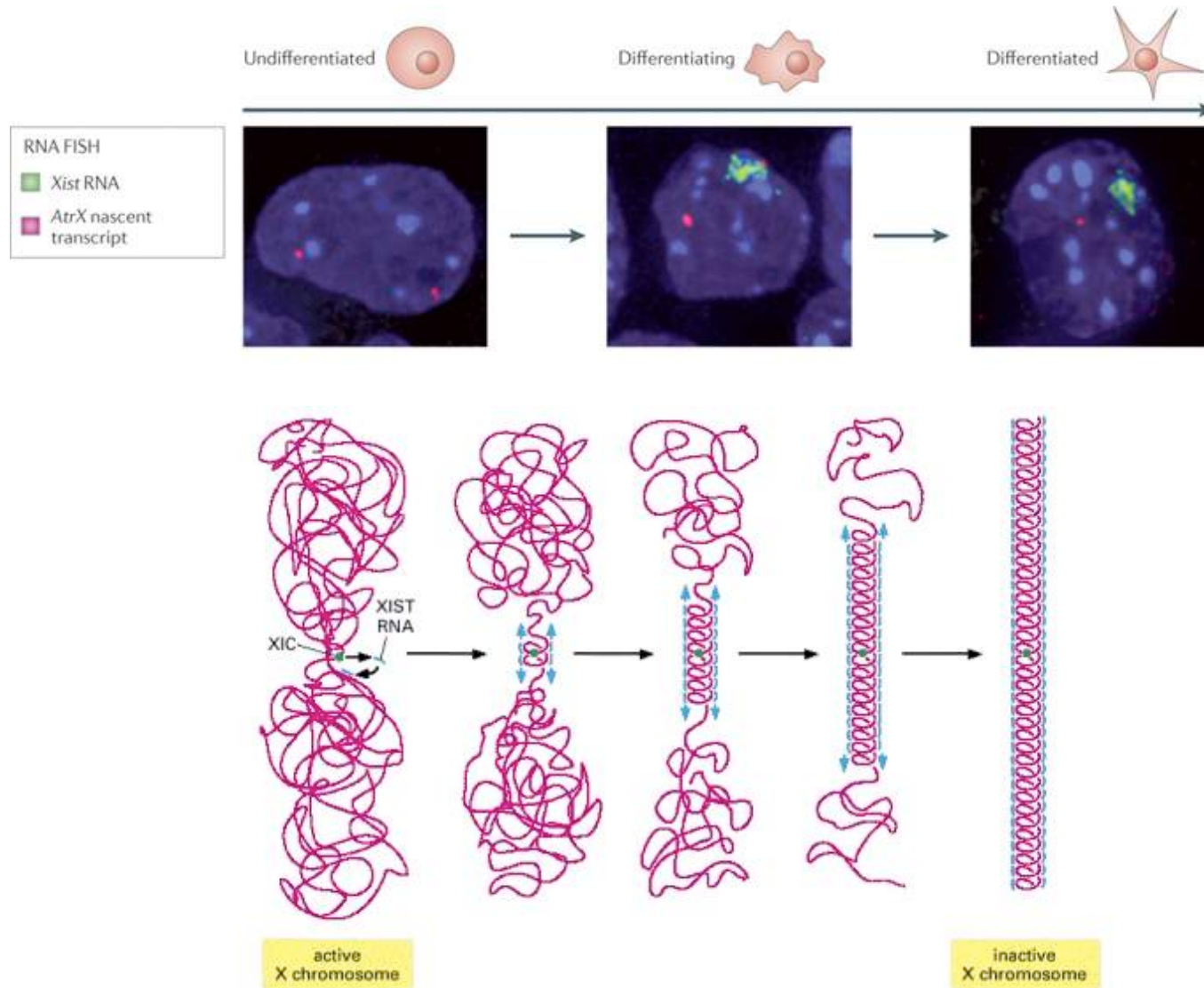


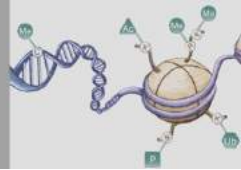
(PcG = Polycomb Group Protein; TrxG = Trithorax Group Protein)

(Guenther and Young (2010) *Science*)

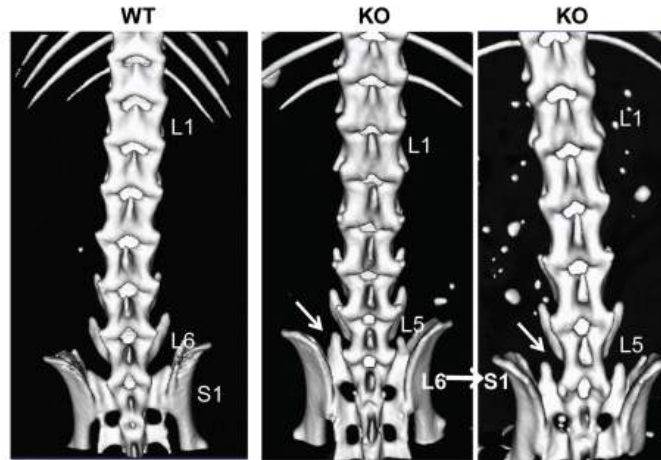
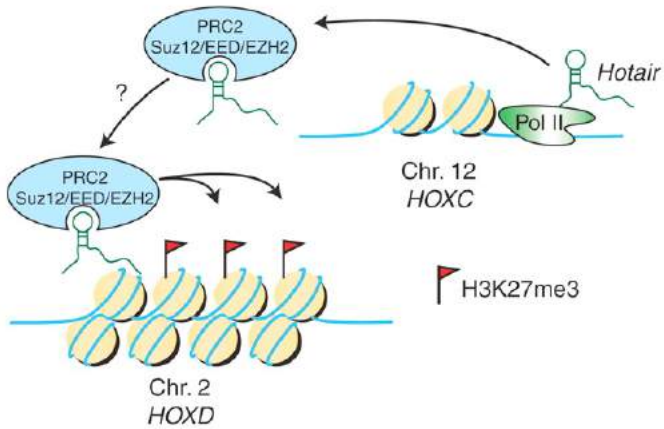


X kromoszóma inaktiváció: a represszív transzkripció klasszikus esete



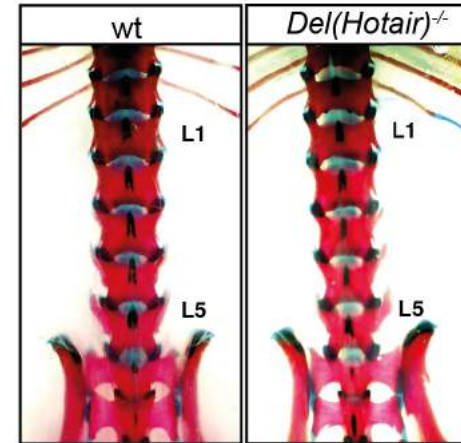


IncRNS-ek funkciója lehet a más kromoszómákon levő gének csendesítése (?)



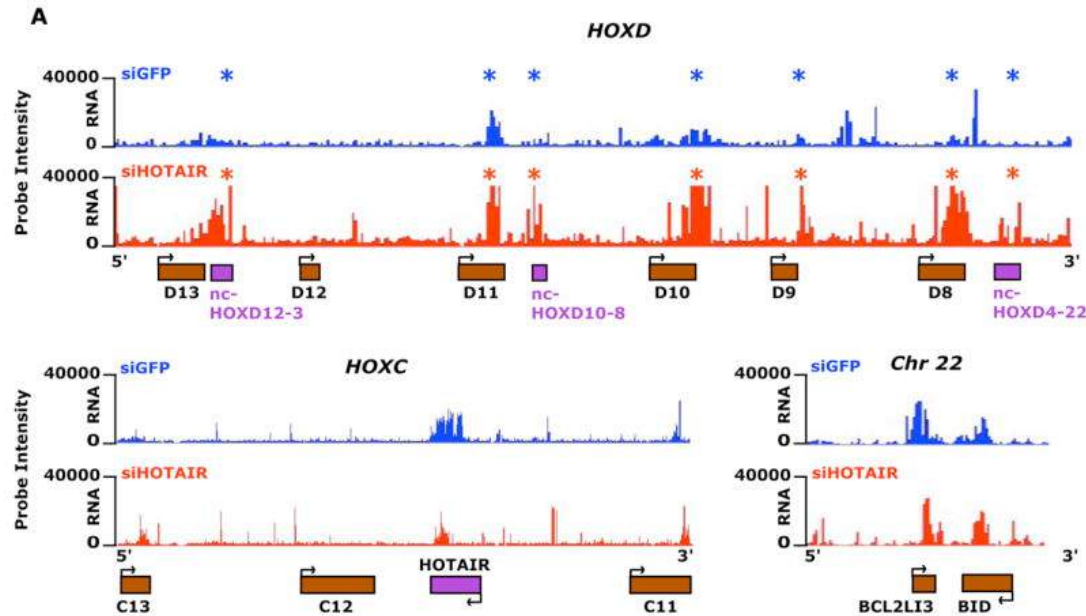
C57BL/6

(Li et al. (2013) *Cell Rep*)



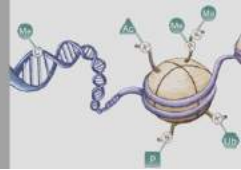
C57BL/6 x CBA

(Amandio et al. (2016) *PLOS Gen*)

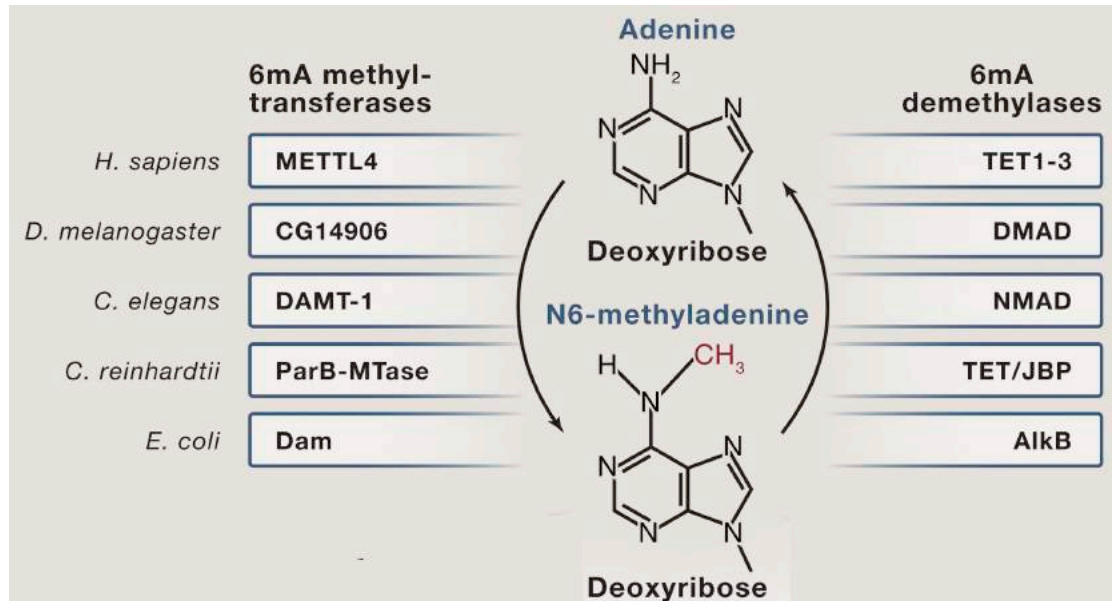


De: Denis Duboule csoportja korábban a teljes HoxC klasztert (benne a *HOTAIR*-t is) kiütötte és nem volt fenotipusos hatás. Hogy lehet ez?

(Rinn et al. (2007) *Cell*)

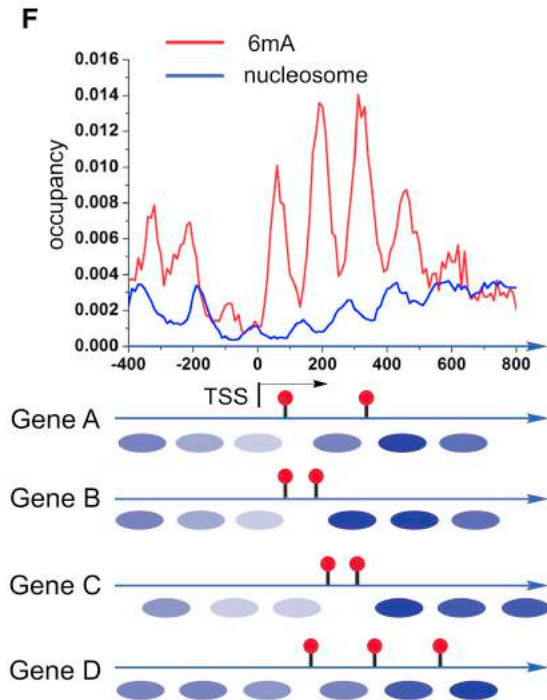
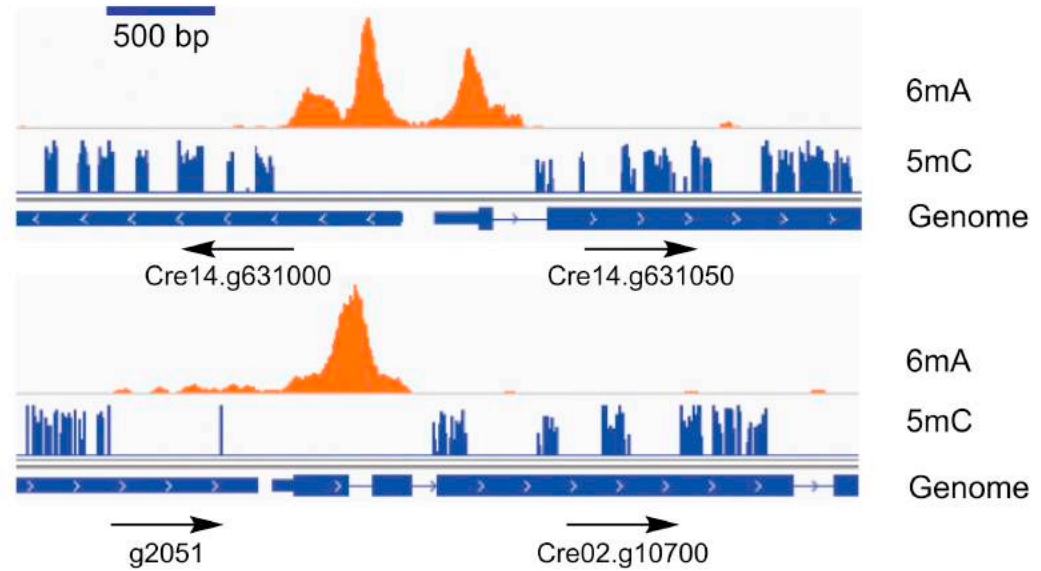
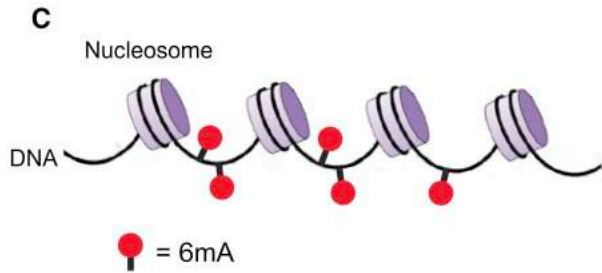
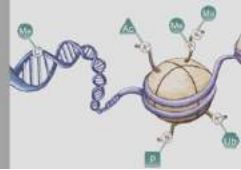


N6-adenin metiláció (m6A): van, de mennyire jelentős?

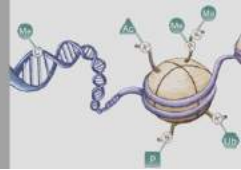


Prokariótákban a m6A metiláció a fontos (m5C nem ismert), a közelmúltban azonban eukariótákban is leírták.

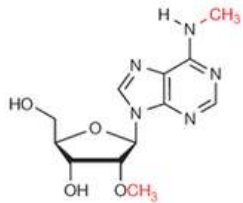
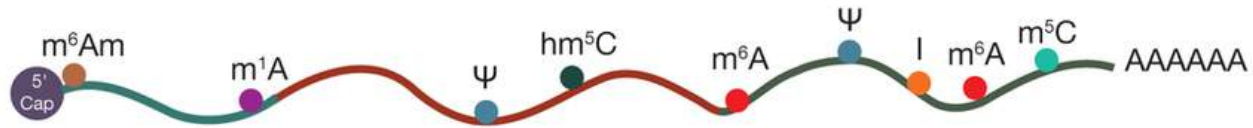
m6A DNS-metiláció szerepe a *Chlamydomonas* génszabályozásában



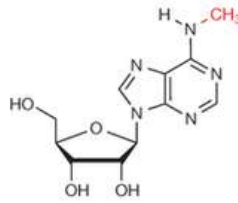
- *Chlamydomonas*-ban a DNS linker régiójában, a TSS környékére található (szemben az m5C-vel ami a gének belsejére jellemző)



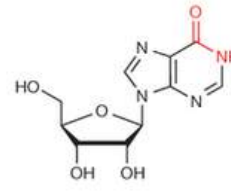
Epitranszkriptóma: az RNS posztranszkripció módosítása



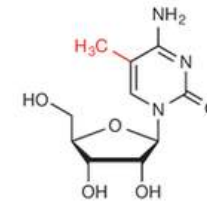
*N*⁶,2'-*O*-dimethyladenosine (m⁶Am)



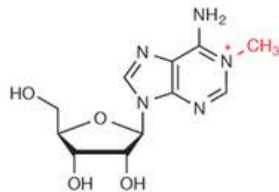
*N*⁶-methyladenosine (m⁶A)



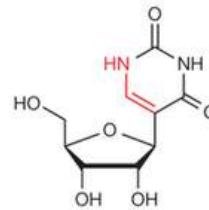
Inosine (I)



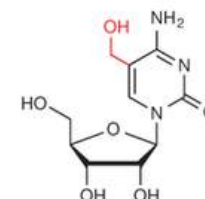
5-methylcytidine (m⁵C)



*N*¹-methyladenosine (m¹A)

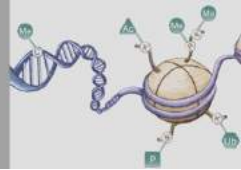


Pseudouridine (Ψ)

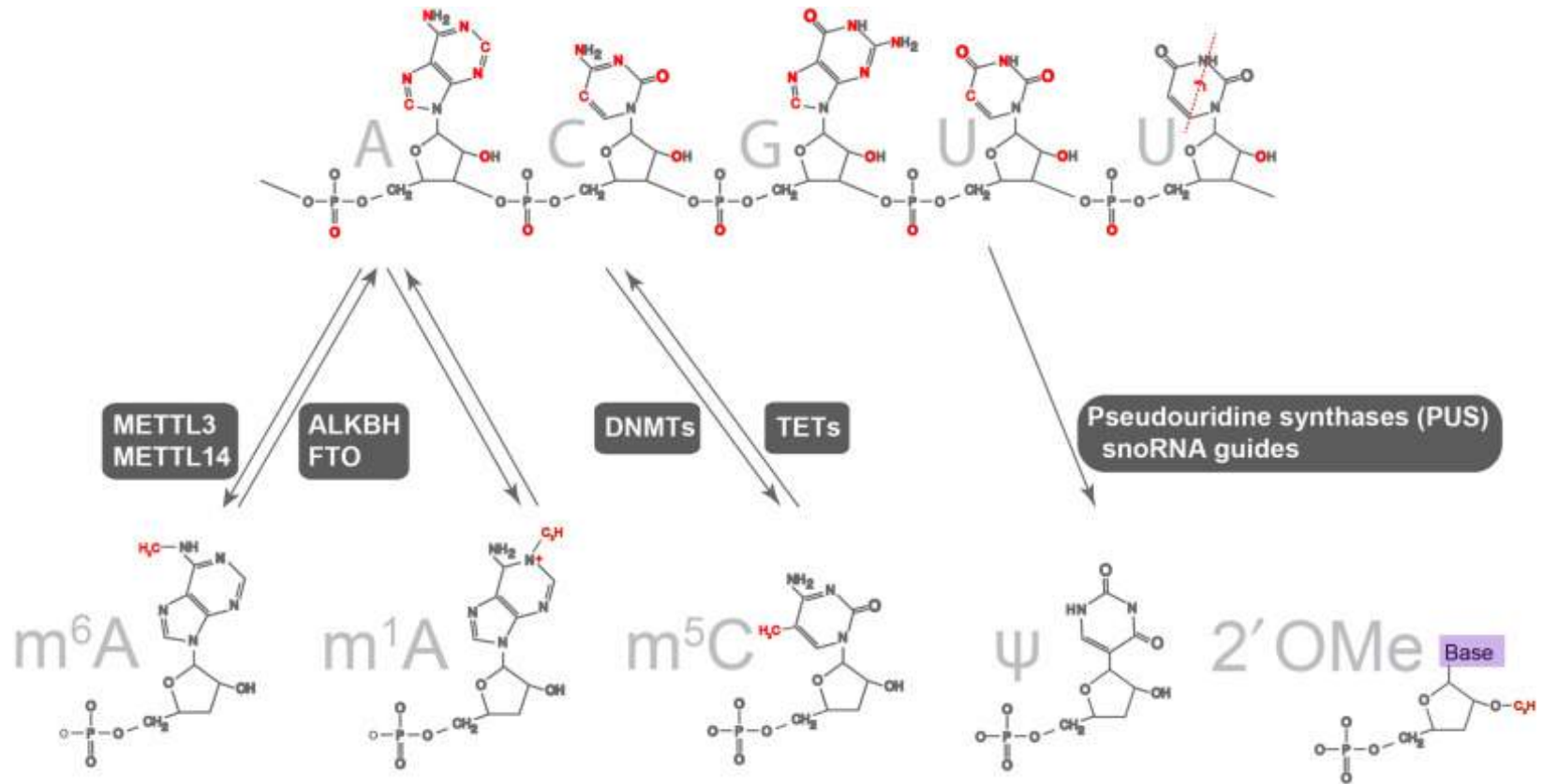


5-hydroxymethylcytidine (hm⁵C)

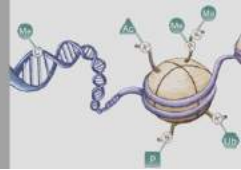
- a posztranszkripció módosításoknak az RNS stabilitására (is) lehet hatása



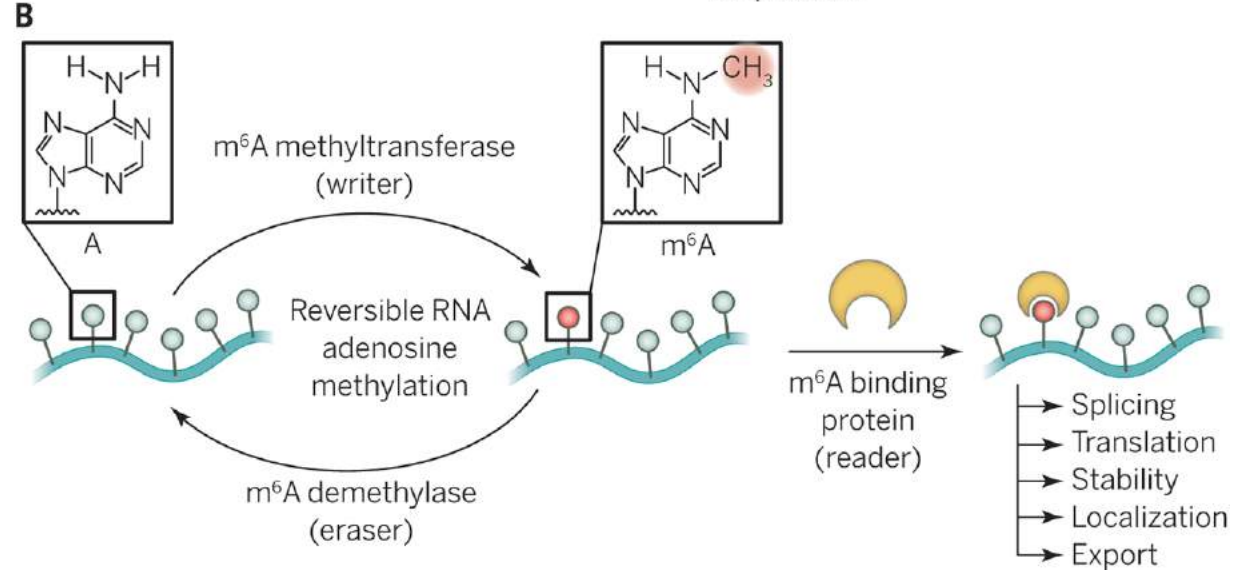
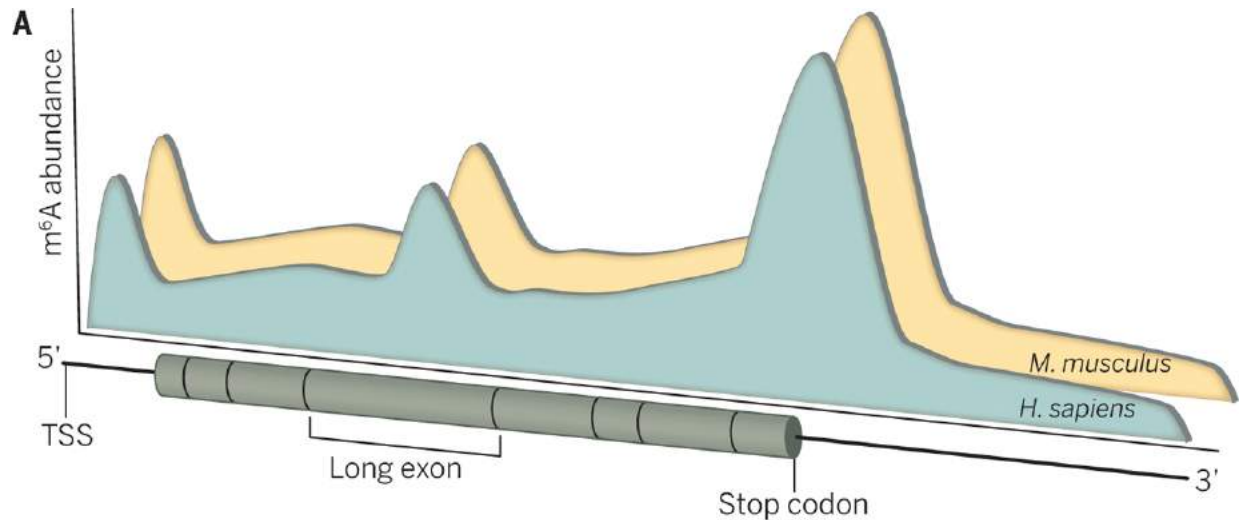
Az epitranszkriptóma módosításai dinamikusak

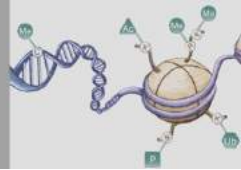


- Itt is megkülönböztetünk “író” (writer), “törlő” (eraser) és “olvasó” (reader) fehérjéket

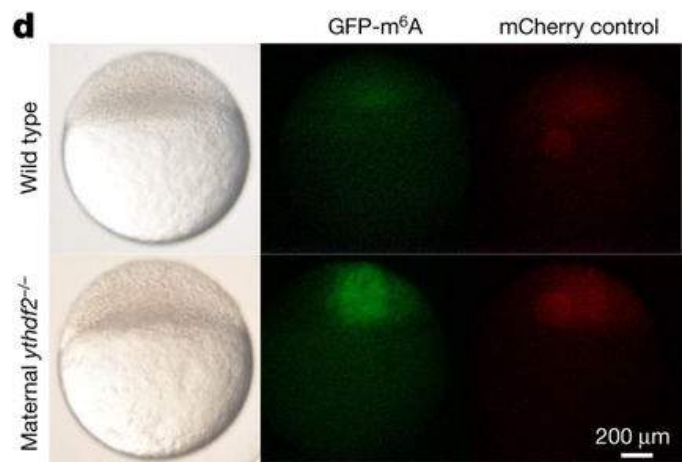
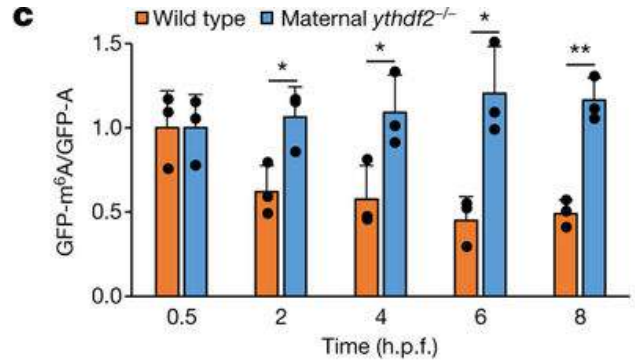
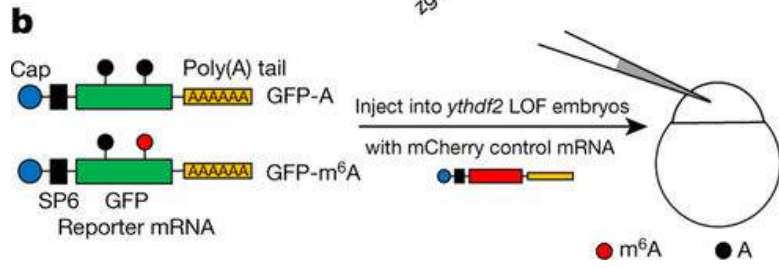
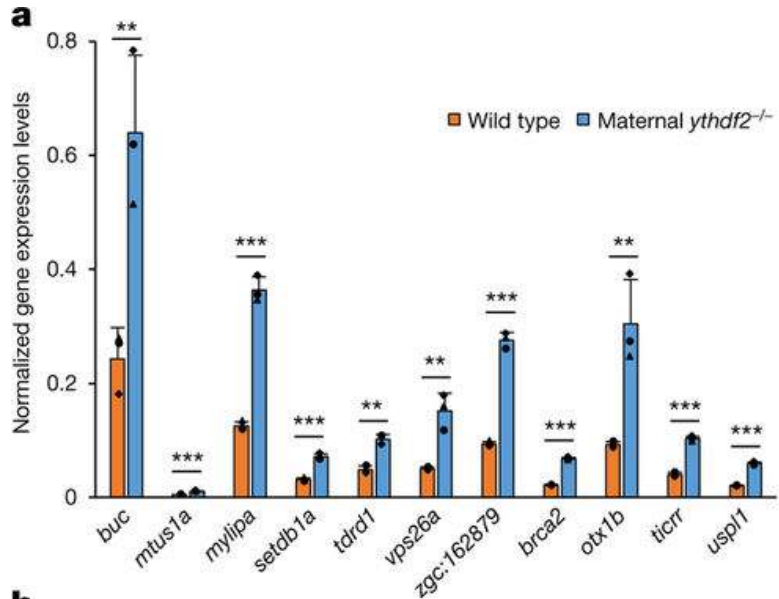
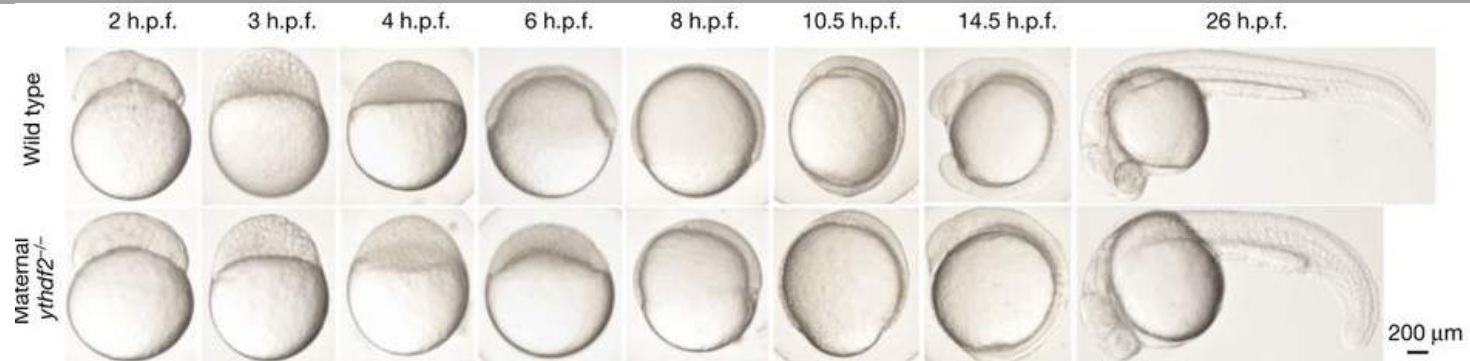


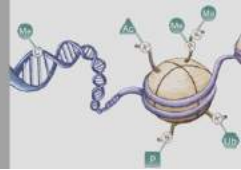
m6A módosítások eloszlása az elsődleges mRNS-en



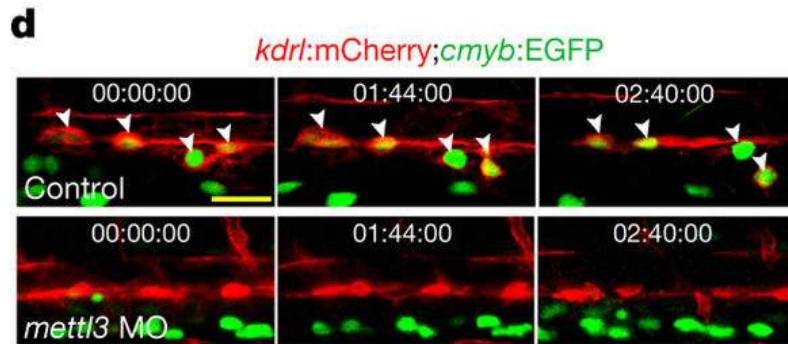
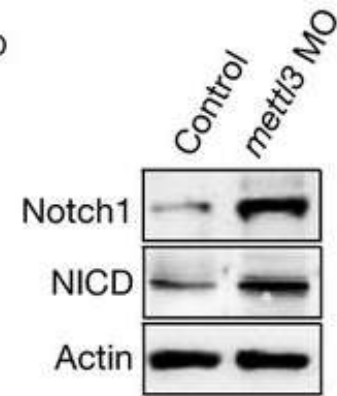
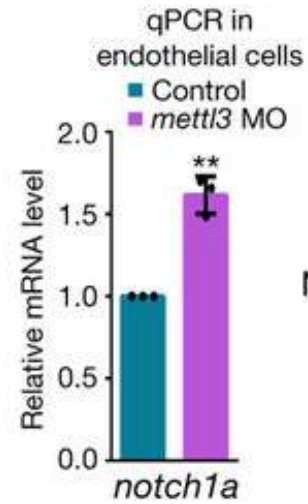
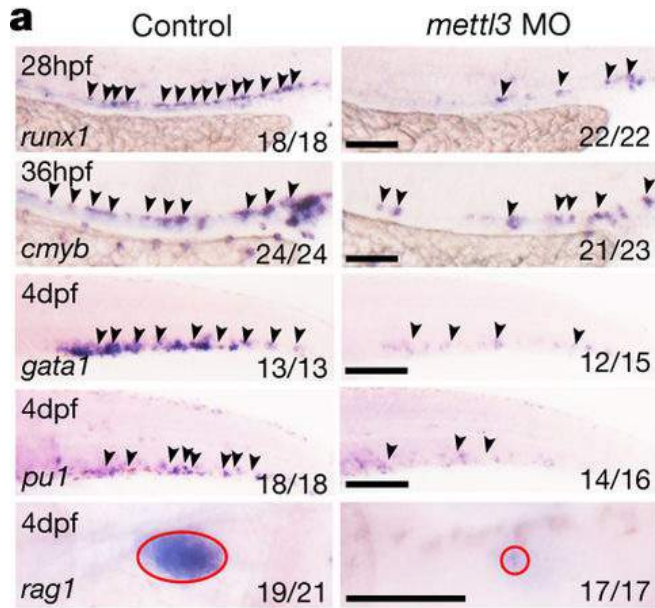


Zebrahal fejlődésben az m6A az anyai transzkriptumok stabilitását befolyásolja



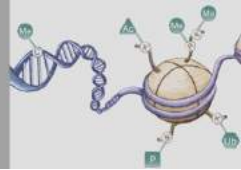


Az m6A a *notch1* transzkriptumok stabilitásának szabályozásával a HSC populáció kialakulását is befolyásolja

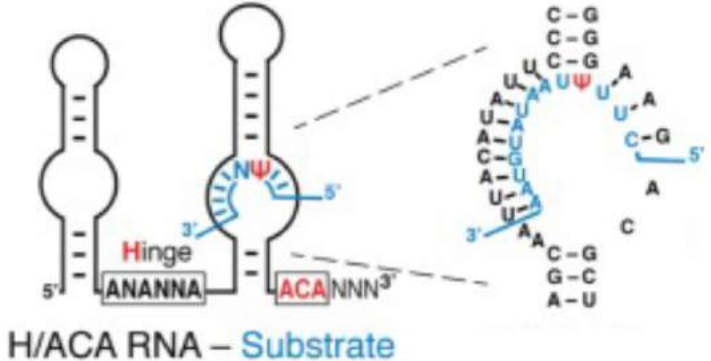


- a túlzottan aktív Notch1a gátolja a HSC-k kialakulását az endotéliumból

- Mettl3 hiányában nem alakulnak ki HSC-k (se differenciálódott vérvonalak)

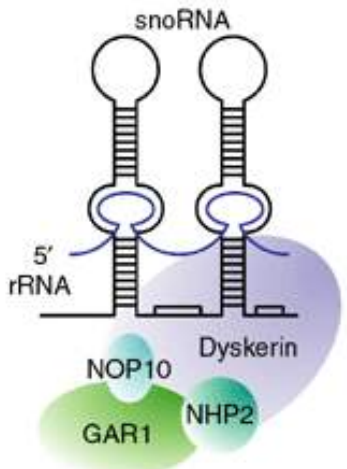


A pseudouridilációt H/ACA-box snoRNS-ek irányítják

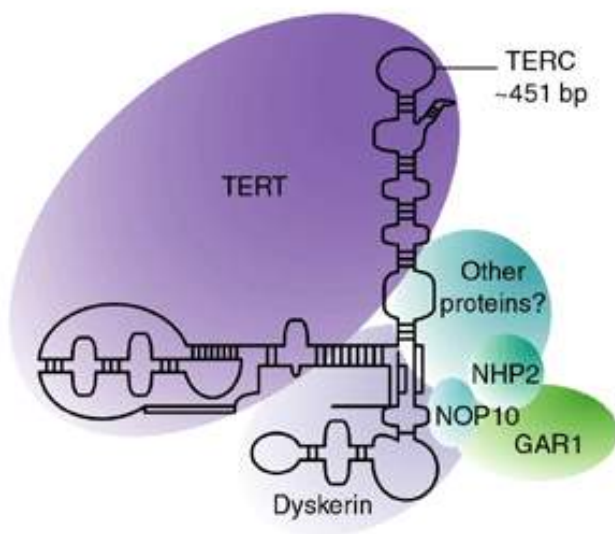


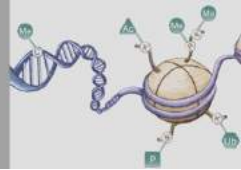
(Yu and Meier, 2014 *RNA Biology*)

The 'pseudouridylation' complex

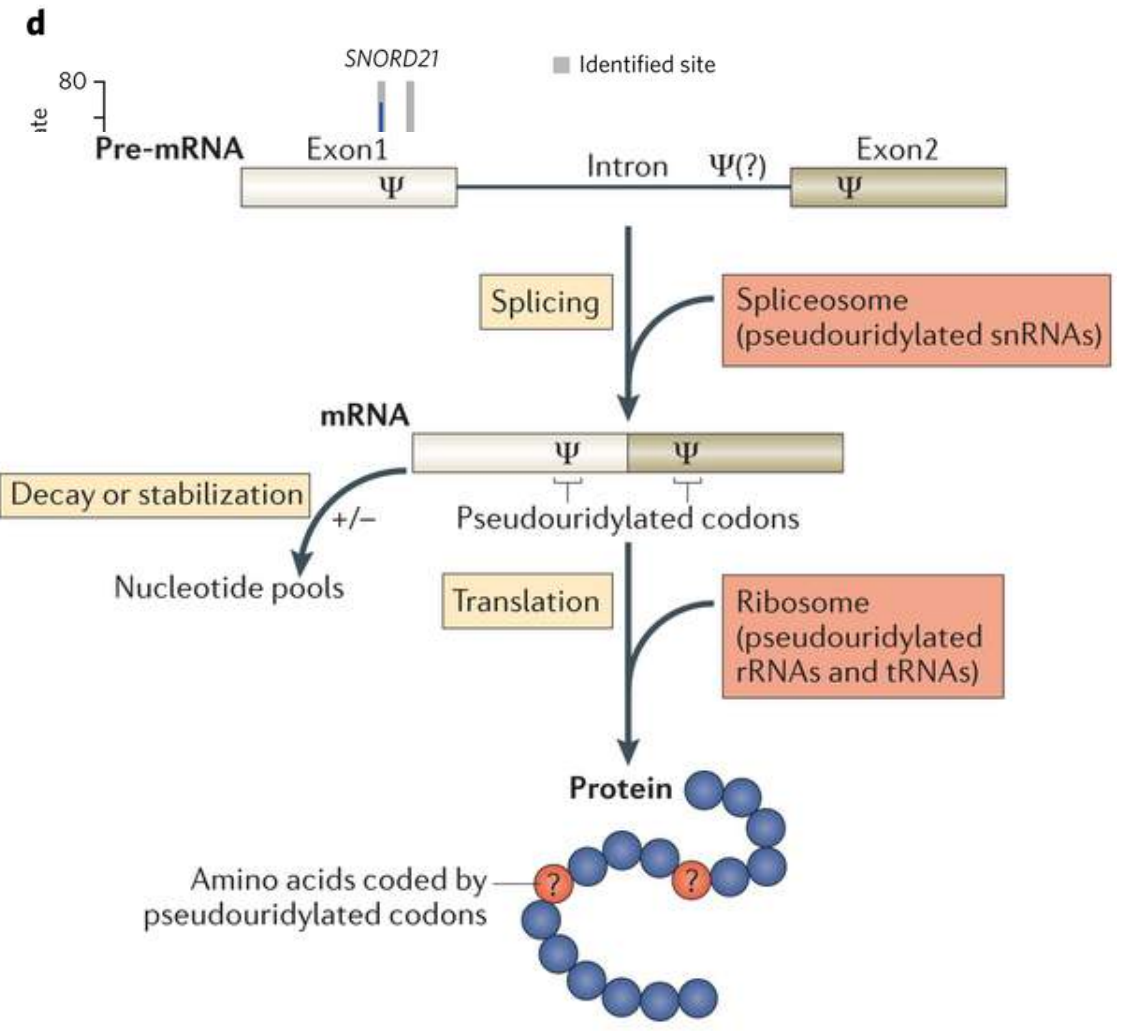
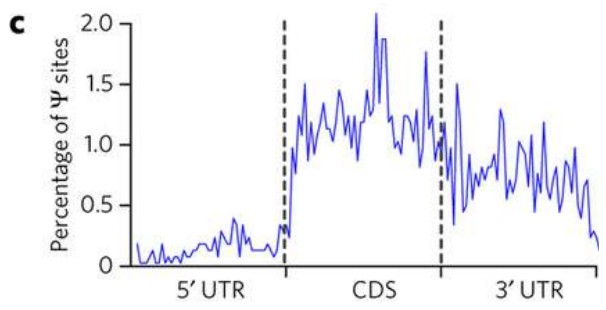
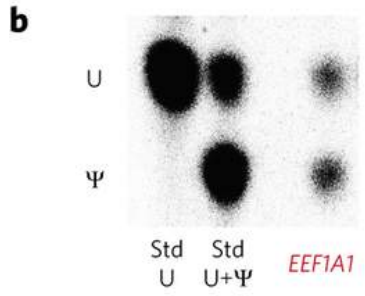
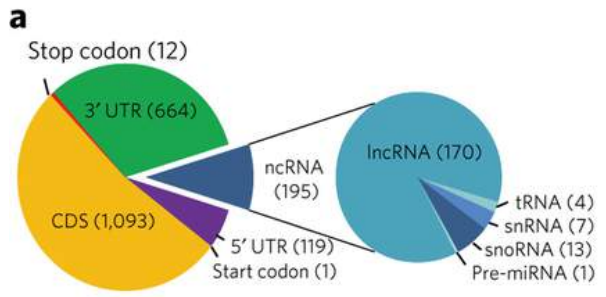


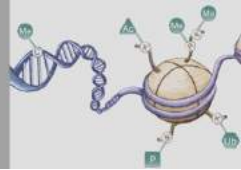
The telomerase complex



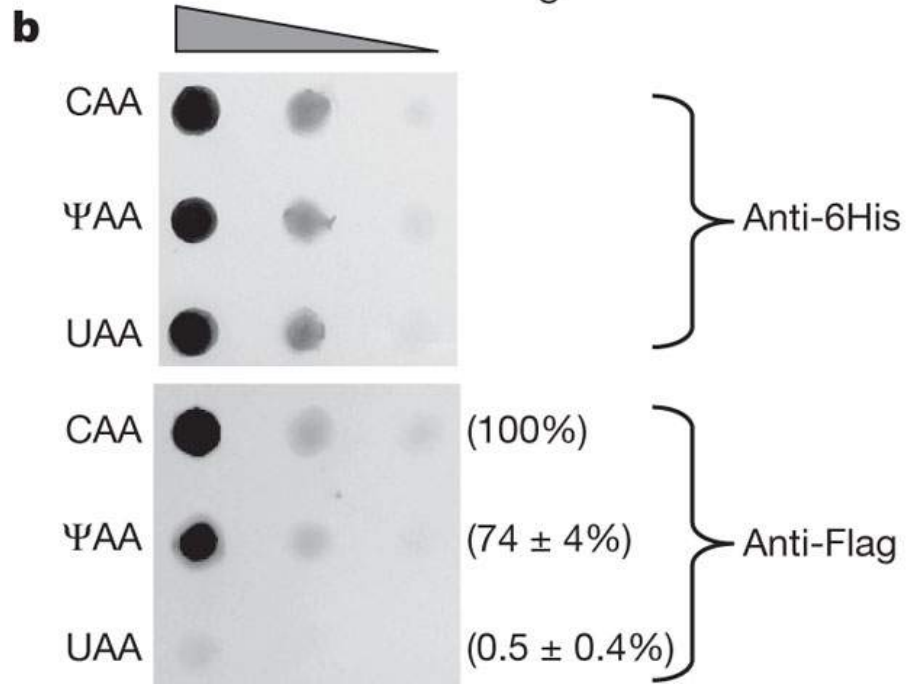
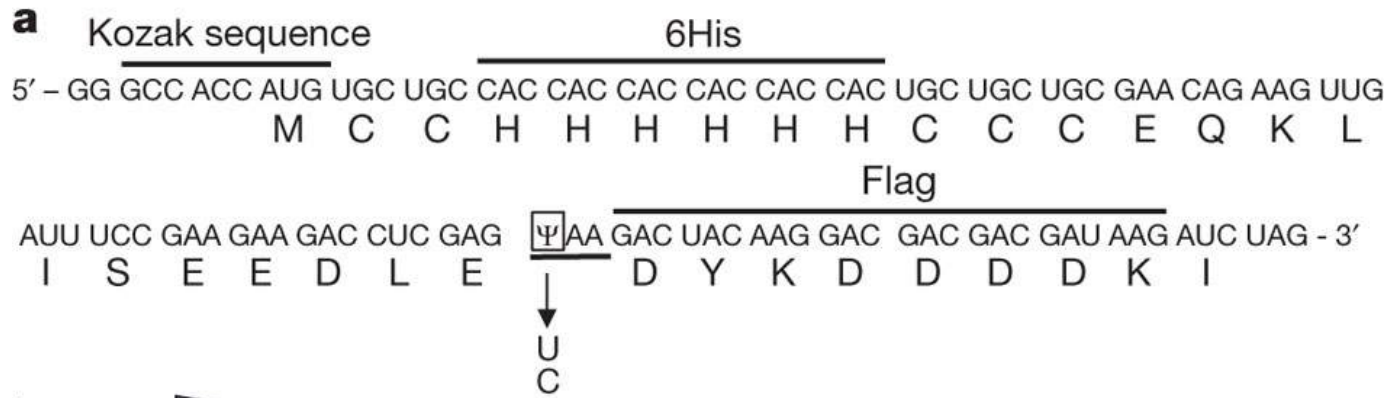


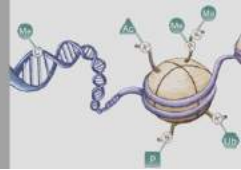
Az mRNS is nagyszámú pseU helyet tartalmaz



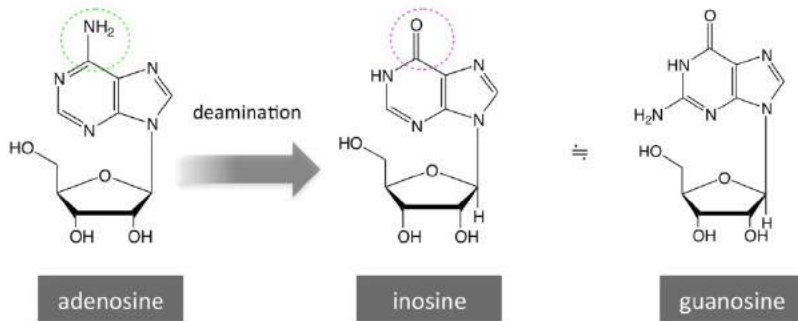


Élesztőben a STOP-kodonok pszeudouridiláció read-through-t eredményez

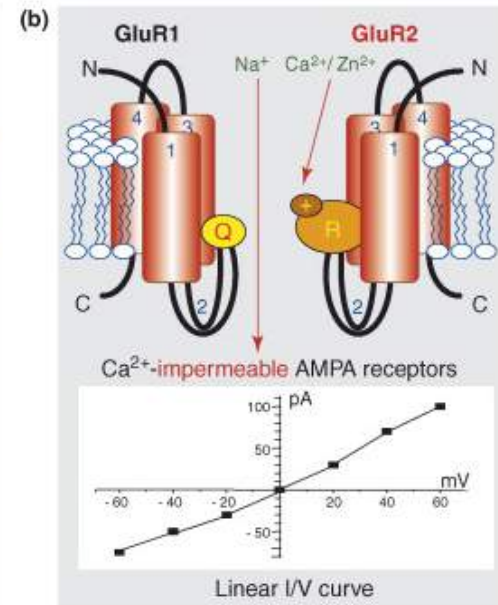
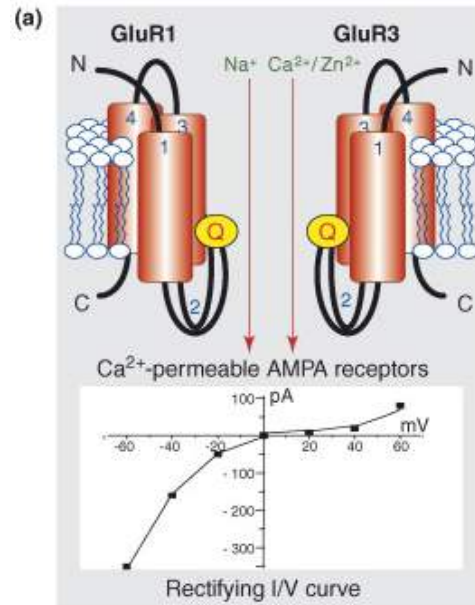
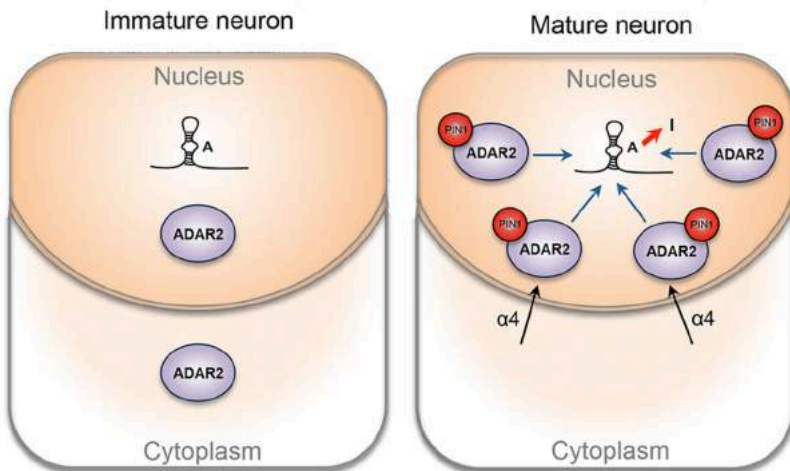
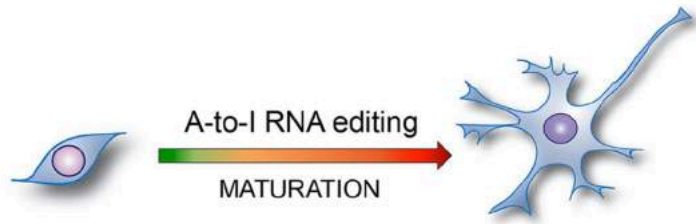




Az adenzin (A) – inozin (I) RNS editálás és szerepe az idegsejtek működésében

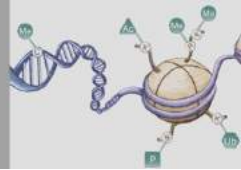


- Az A-to-I RNS editálást ADAR (Adenosine deaminase acting on RNA) enzimek katalizálják

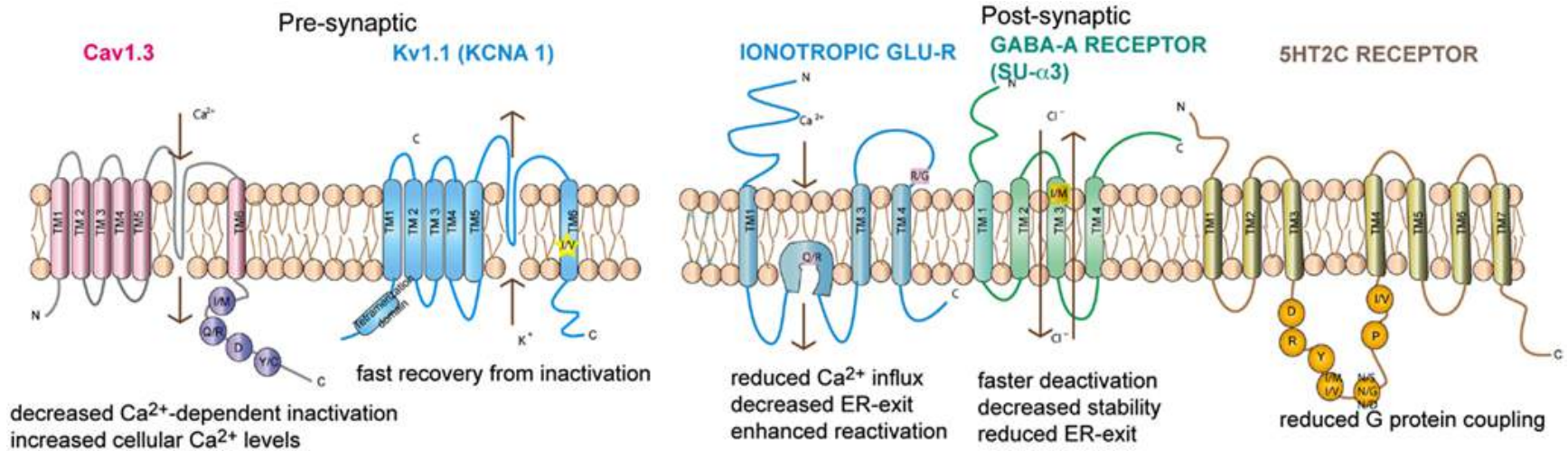


TRENDS in Neurosciences

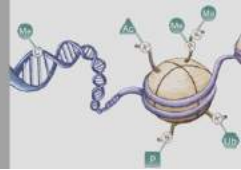
- GluR2 esetében az AMPA-receptor Ca²⁺ permeabilitása változhat az editálás eredményeként, ami a membránpotenciál dinamikájába szól bele



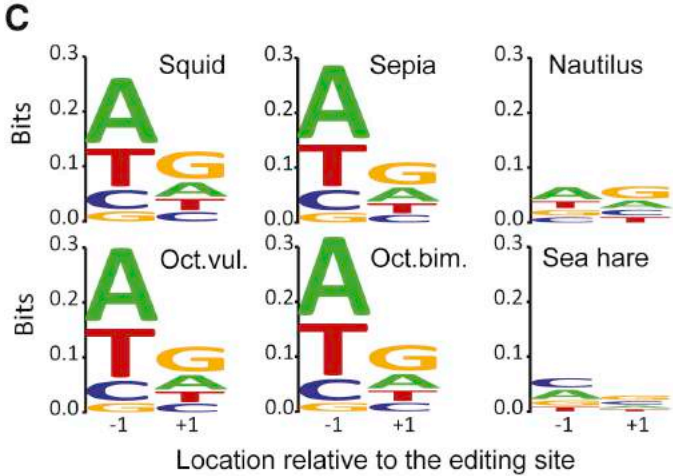
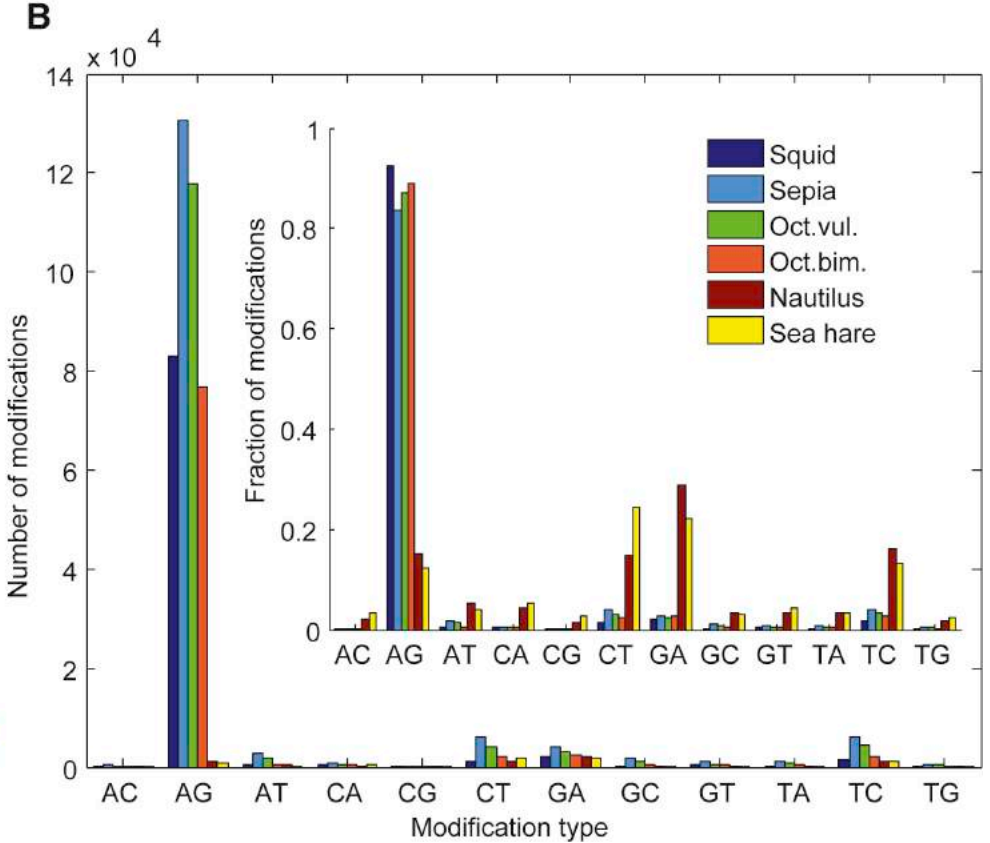
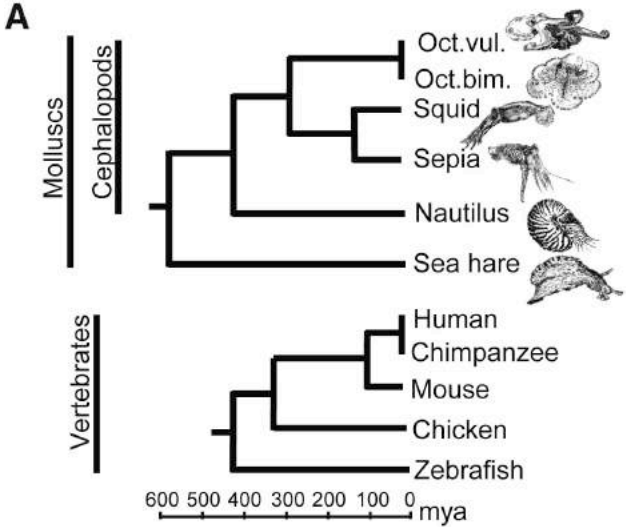
Az adenzin (A) – inozin (I) RNS editálás és szerepe az idegsejtek működésében



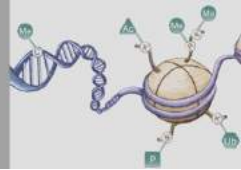
- számos további ion-csatorna működését változtatja meg az RNS-editálás következtében bekövetkező aminosav-csere



Az A-to-I editálás bajnokai, a fejlábúak

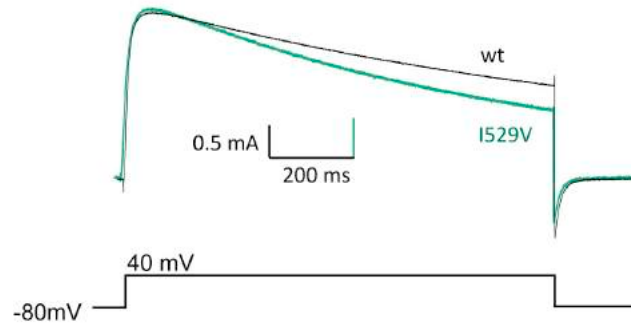


- a Coleoid fejlábúakra jellemző az A-to-I editálás



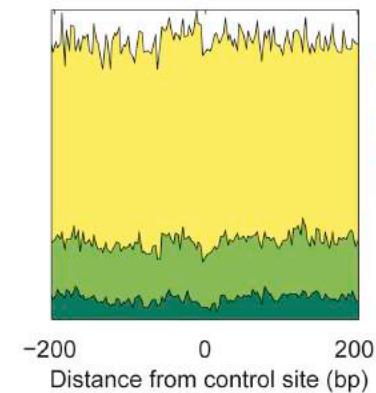
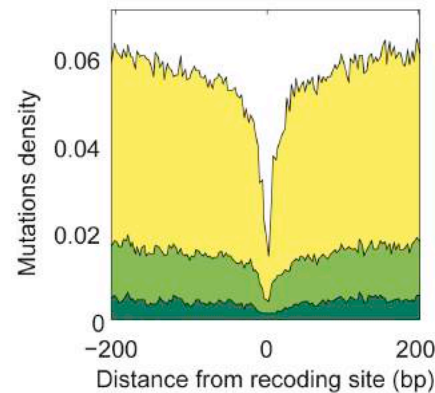
Az A-to-I editálás bajnokai, a fejlábúak

Sepia $K_v2.1$ specific editing site



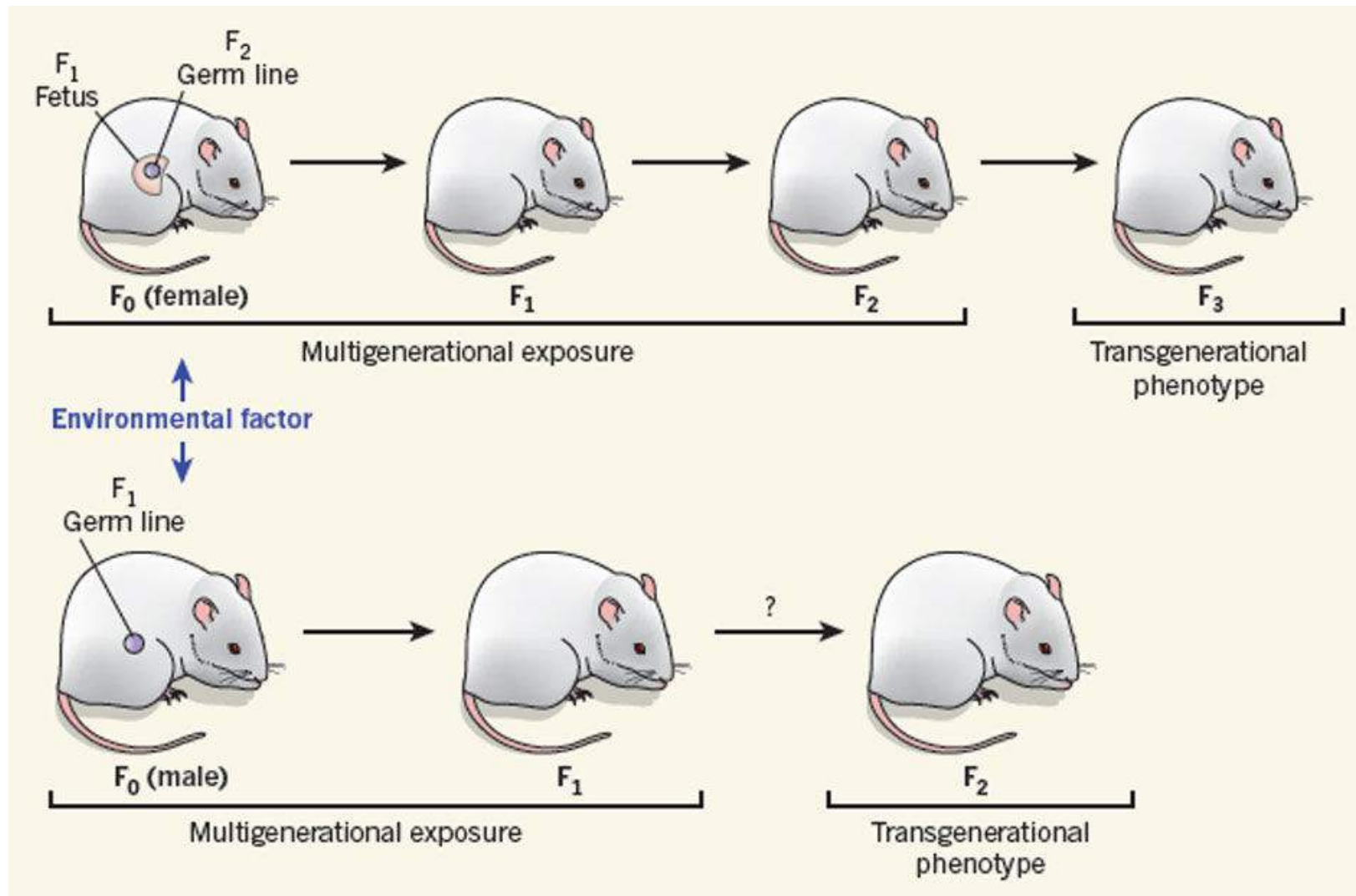
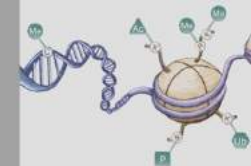
- a K_v2 kálium-csatorna pl. gyorsabban zárul az editálás hatására

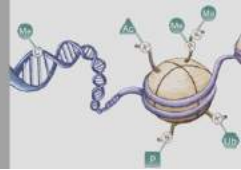
- mivel a nagyszámú editálandó hely (editing-site) pozitív szelekció alatt van, ezek jelenléte miatt a Fejlábúakban lelassul a genom evolúciós változása



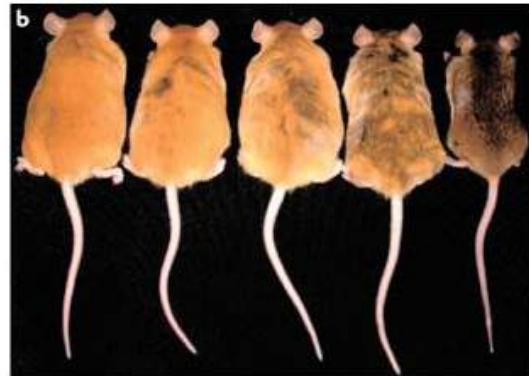
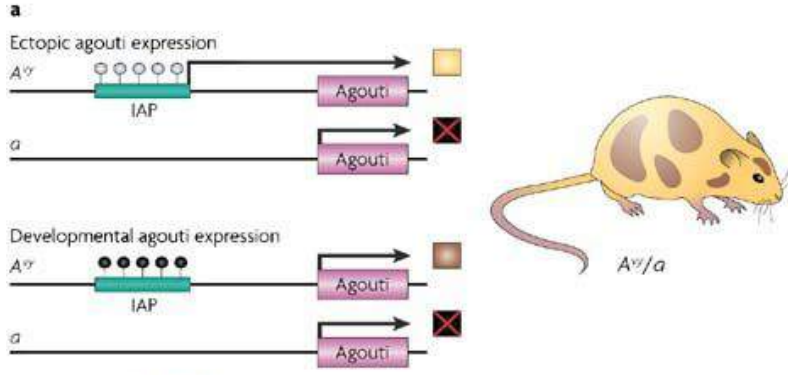
■ Synonymous changes
■ Non-synonymous changes
■ Deletions

Az elefánt a szobában: transzgenerációs epigenetikai módosítások

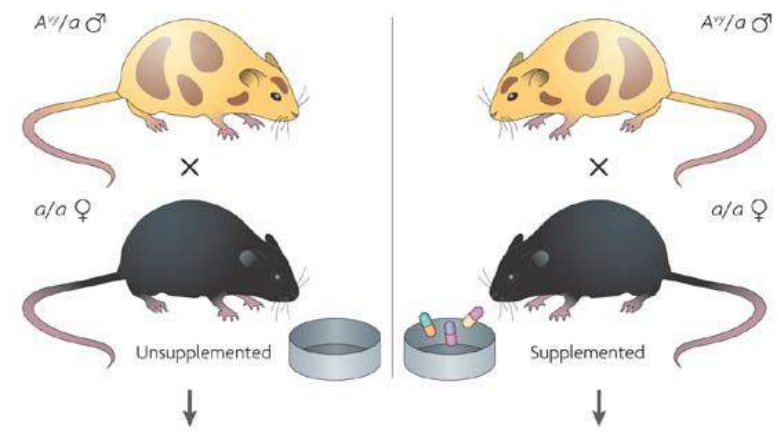




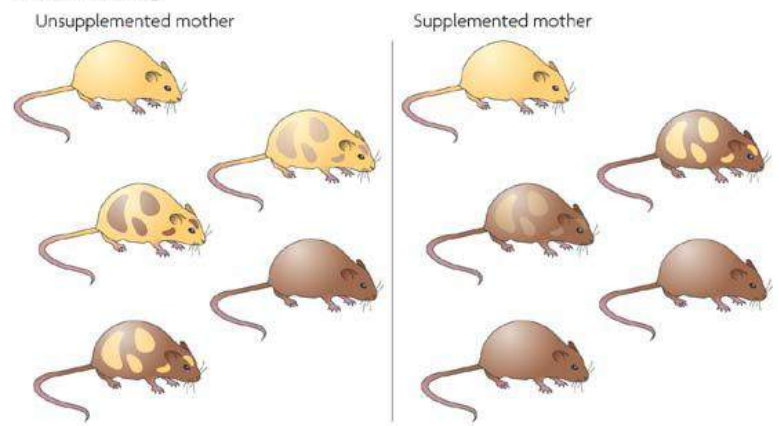
Az agouti szőrszín: egy klasszikus példa nem-mendeli, epigenetikai öröklődésre



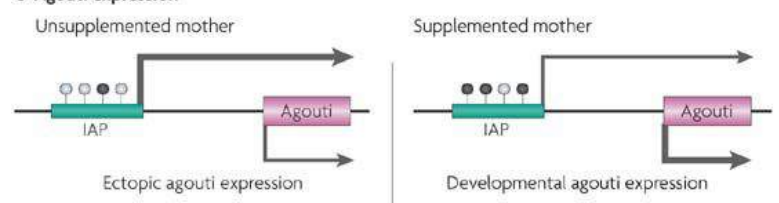
a Dietary supplementation during pregnancy



b A^{vy}/a offspring



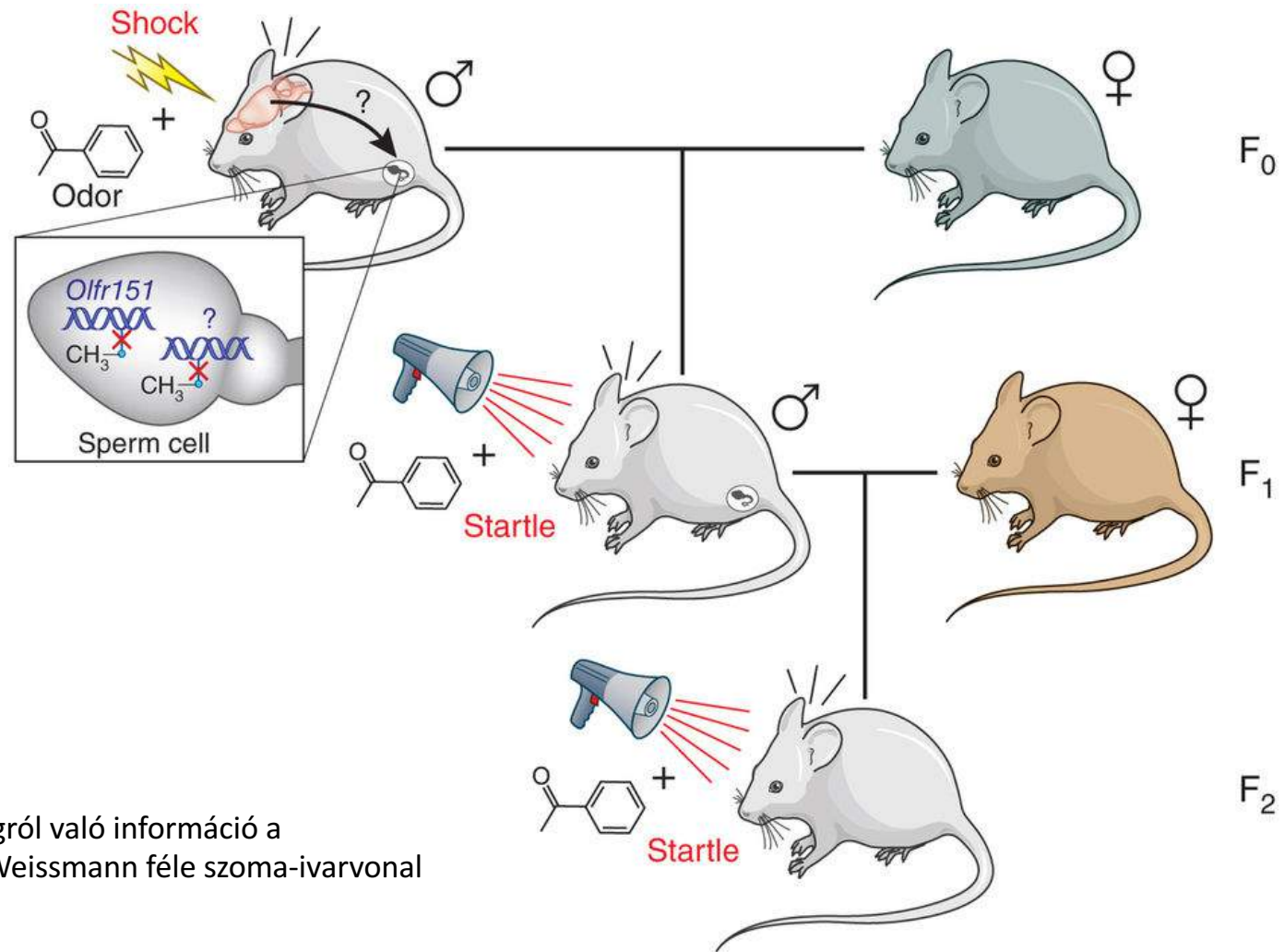
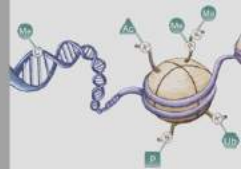
c Agouti expression



- Az Avy lókuszt egy retrotranszpozit hordoz, amiből több ezer van a genomban, általában metilált formában.
- De van néhány (pl az agouti promóterben levő), ami metastabil
- Az öt egér azonos allélkombinációt hordoz, a különbségek epigenetikai eredetűek.
- Az agouti egerek nem csak világosak, de kövérebbek is. (Többfajta epigenetikai hatás.)

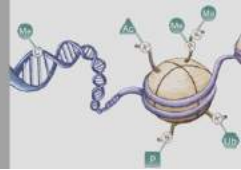
(Jirtle and Skinner, 2007 *Nat Rev Gen*)

Egy ezoterikus példa transzgenerációs öröklődésre: kondicionálás öröklődése

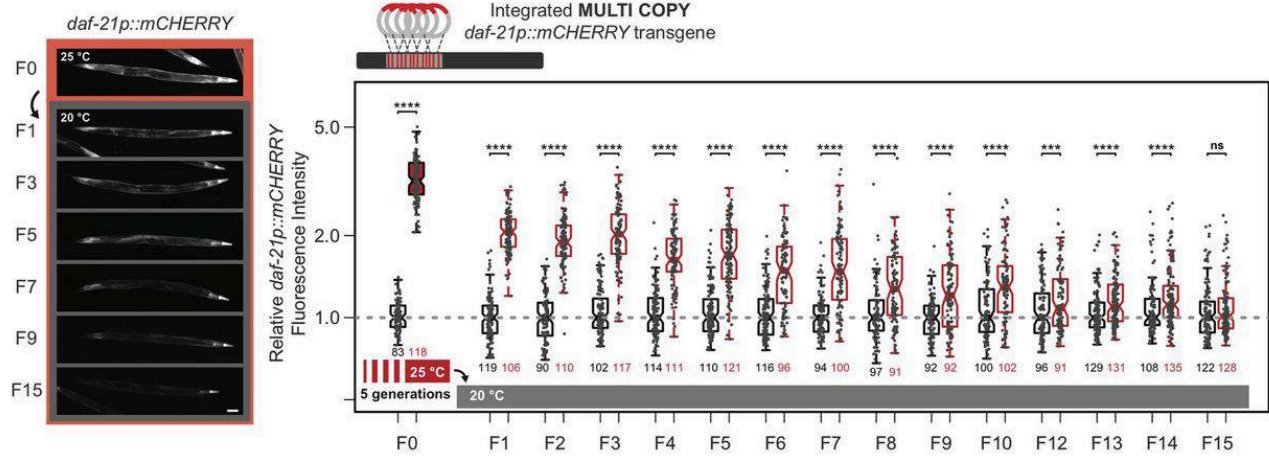


Kérdések:

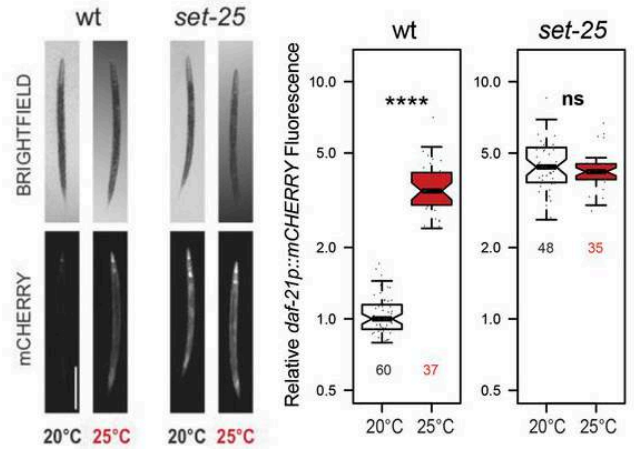
- Hogy juthat el a konkrét szagról való információ a spermiumokba? (lásd még Weissmann féle szoma-ivarvonal szegregációt.)
- Mennyire specifikus ez?
- Egy elvileg dinamikus metilációs változás, hogyan marad meg a fejlődés korai szakaszát kísérő demetilációs hullám alatt?



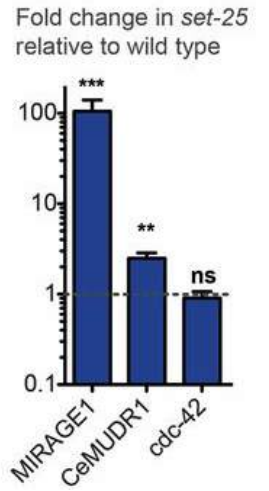
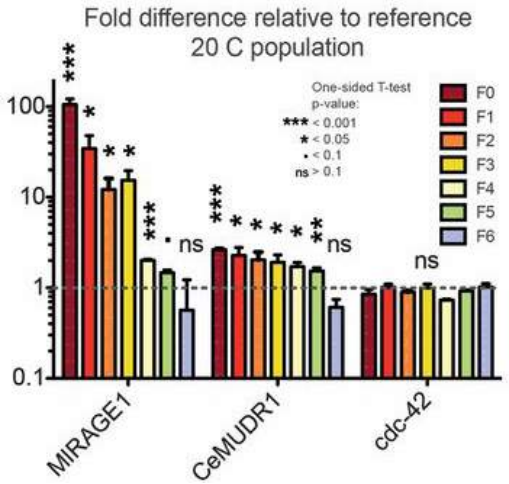
Egy megmagyarázható példa transzgenerációs öröklődésre



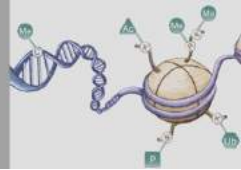
- egy hőszokkolható, többkópiás transzgén 14 (!) generáción át marad bekapcsolva hőszokk után



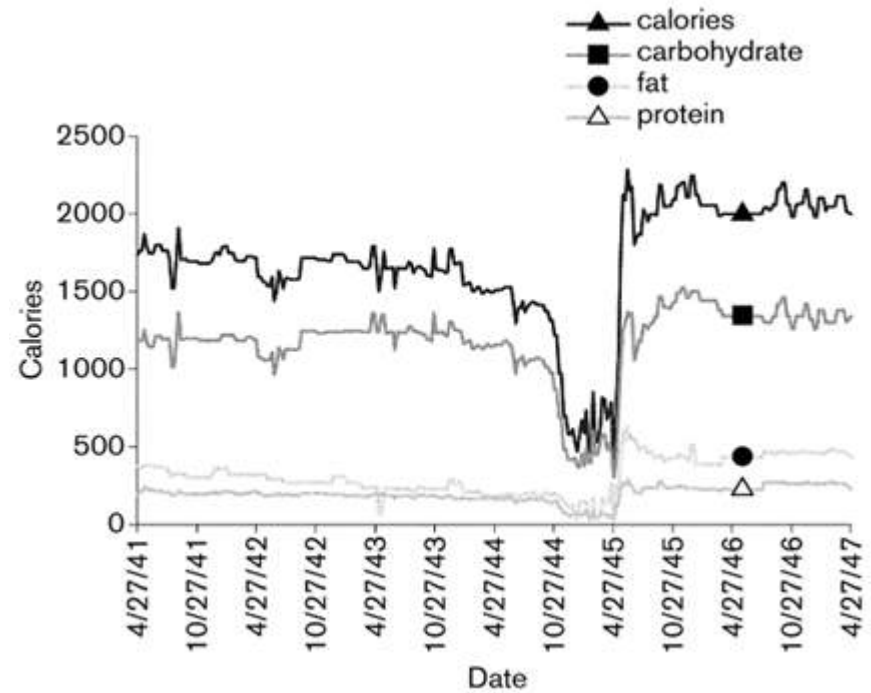
- SET-25: hiszton metiltranszferáz, H3K9me3-ért felel



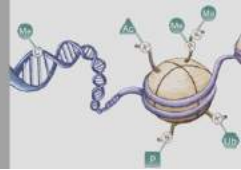
- hőszokk hatására általános SET-25 gátlás történik (így más lokuszknál is több generáció, amíg visszaáll az eredeti állapot)



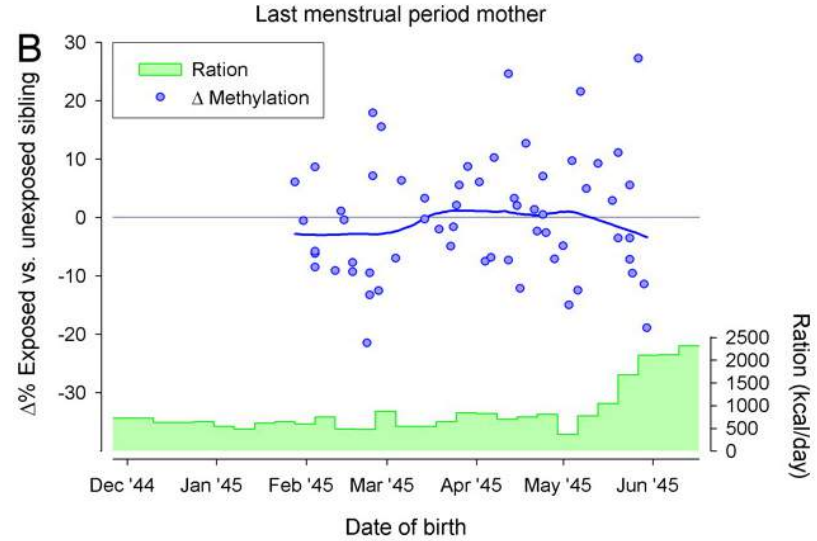
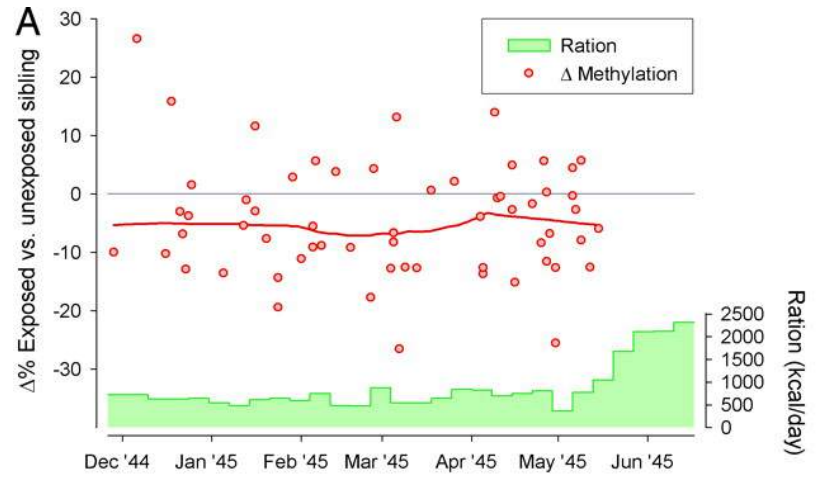
Emberi példák: a holland Hungerwinter (1944/45)



- az ez idő alatt embrionális fejlődésben levő gyerekeben felnőttként nagyobb a cukorbetegség, elhízás, kardiovaszkuláris betegségek, bizonyos pszichiátriai problémák gyakorisága



Emberi példák: a holland Hungerwinter (1944/45)



- a gesztáció alatti éhezés az *IGF2* gén DMR régiójának hipometiláltságát okozza, ami hat évtizeddel később is jelen van!

(Heijmans et al, 2008 PNAS)

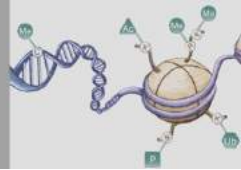
DE: F2-ben már nincs szignifikáns hatás

Table 2. Prevalence of F2 self-reported disease* according to F1 gender

	F1 exposed	F1 unexposed	All
F2 of F1 men			
<i>n</i>	52	99	151
Cardiovascular%	5.9	2.0	3.4
Pulmonary%	9.8	8.2	8.7
Hay fever%	19.6	30.6	26.8
Eczema%	25.5	24.5	24.8
Cholesterol%	0.0	2.0	1.3
Diabetes%	0.0	2.0	1.3
Hypertension%	3.9	2.0	2.7
F2 of F1 women			
<i>n</i>	106	103	209
Cardiovascular%	1.9	4.0	3.0
Pulmonary%	4.9	5.0	4.9
Hay fever%	20.6	18.0	19.3
Eczema%	19.4	24.0	21.7
Cholesterol%	0.0	0.0	0.0
Diabetes%	1.0	0.0	0.5
Hypertension%	3.9	5.0	4.4

*Defined as answering in the affirmative to questions phrased as 'has a doctor ever diagnosed' or 'has a doctor ever prescribed medication for' the different conditions.

(Veenendaal et al., 2013 BJOG)

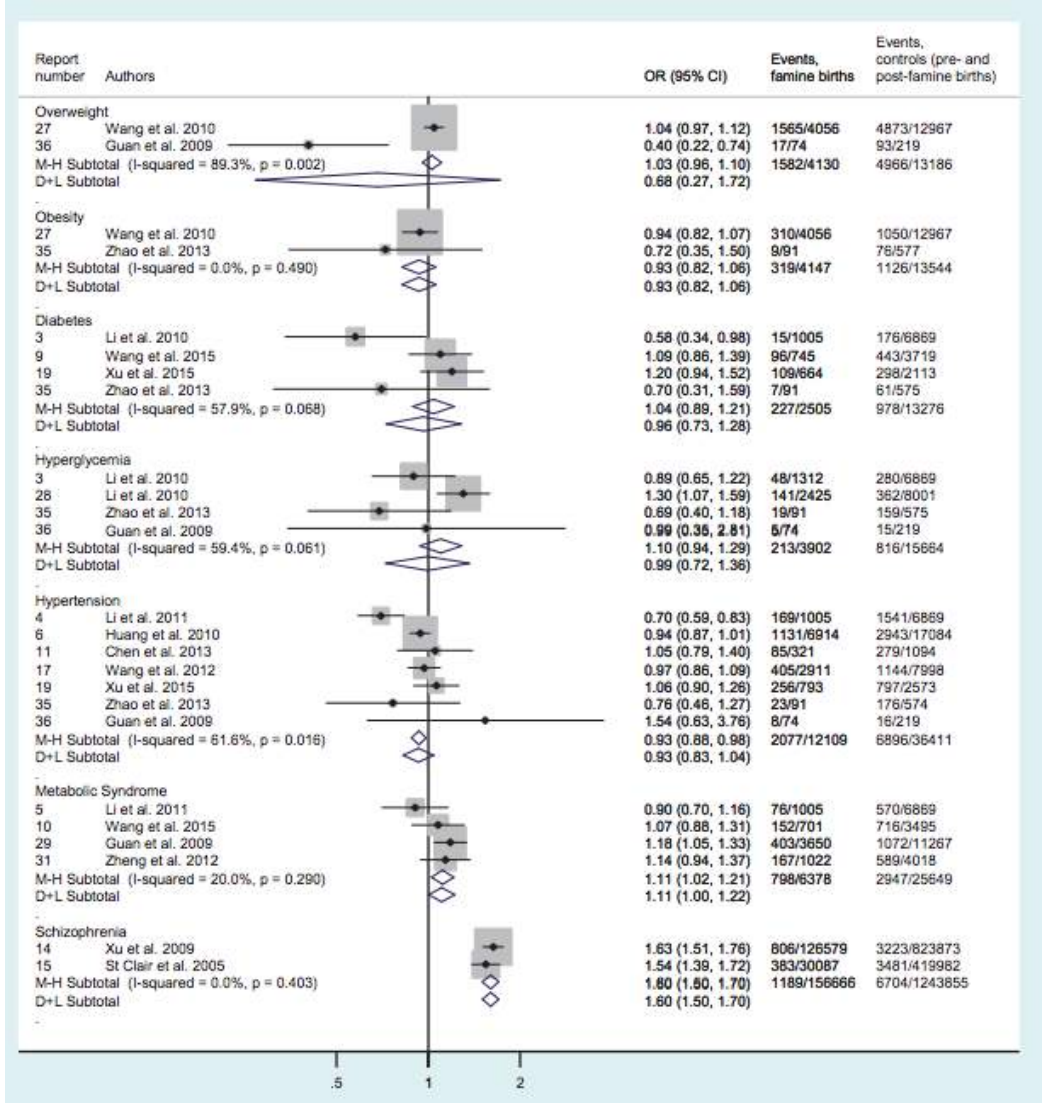


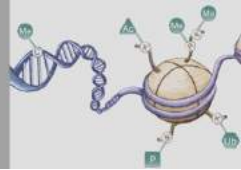
Emberi példák: Kína, Mao reformjai (1959-60)



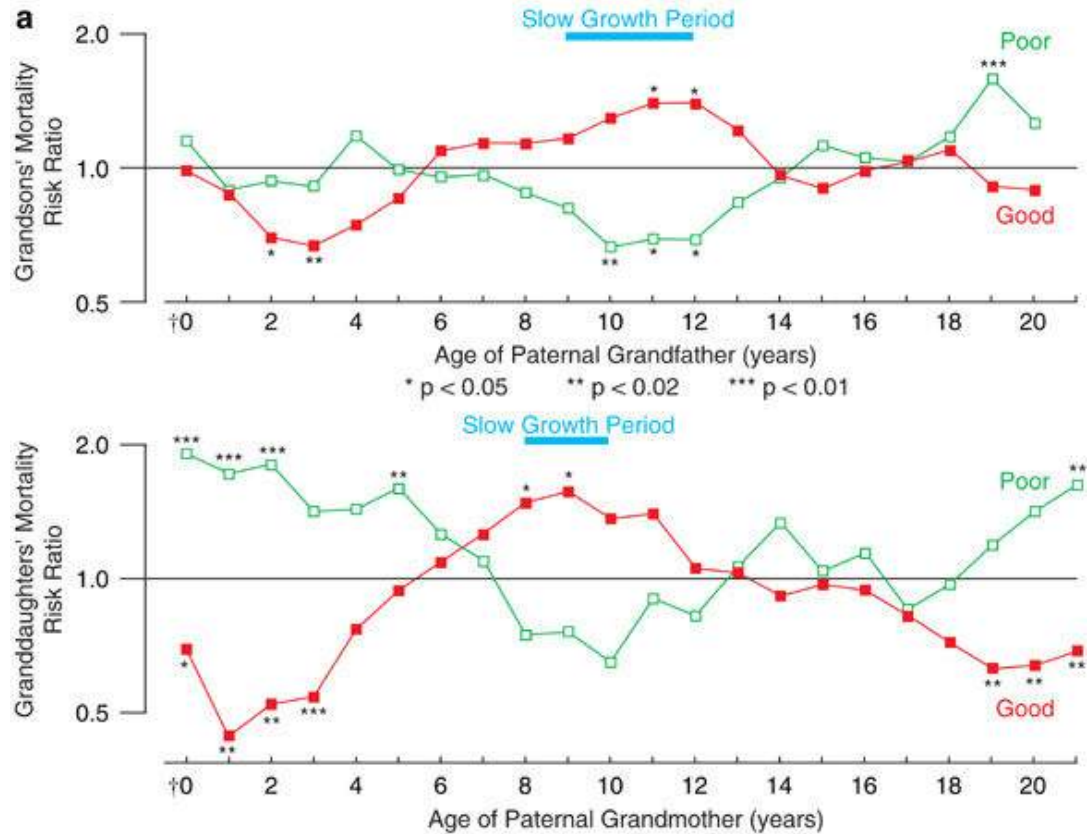
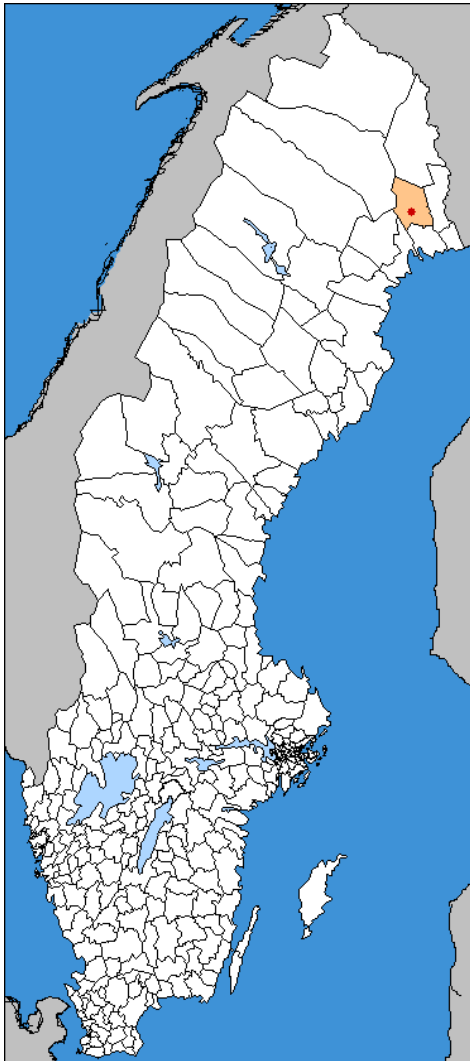
- a "Nagy Ugrás" eredményeképpen 30-55 millió ember halhatott éhen

- ma egyedül a skizofrénia esetében látszik asszociáció





Emberi példák: Överkalix



- ez egy kétgenerációs fura *asszociáció* igazából nem tudjuk mi az oka, az epigenetikai ok csak egy lehetőség